

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Freien Universität Berlin
im Klinikum Charlottenburg

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl

NEUE ERKENNTNISSE ÜBER DAS C-REAKTIVE PROTEIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Lutz Bensing aus Lörrach/Baden

1977

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Freien Universität Berlin
im Klinikum Charlottenburg

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. E. S. Bücherl

NEUE ERKENNTNISSE ÜBER DAS C-REAKTIVE PROTEIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Lutz Bensing aus Lörrach/Baden

Referent: Professor Dr.med.H.Götz

Korreferent: Professor Dr.Dr.K.-H.Meyer zum Büschenfelde



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Universität Berlin

Promoviert am 6.12.1977

I n h a l t s ü b e r s i c h t

	Seiten
1 <u>E i n l e i t u n g</u>	1 - 5
2 <u>H a u p t t e i l</u>	6 - 48
2. 1 <u>Physikochemische und immunbiologische Eigenschaften des CRP</u>	6 - 27
2. 1. 1 <u>Molekularbiochemische und molekularbiologische Eigenschaften</u>	6 - 10
2. 1. 2 <u>Isoelektrischer Punkt und elektrophoretische Eigenschaften</u>	10 - 14
2. 1. 3 <u>Immunologische und immunochemische Eigenschaften</u>	14 - 27
2. 2 <u>Vorkommen, Bildungsstätte(n) und Isolierung des CRP</u>	28 - 35
2. 2. 1 <u>Vorkommen</u>	28 - 31
2. 2. 2 <u>Bildungsstätte(n)</u>	31 - 33
2. 2. 3 <u>Isolierung des CRP</u>	33 - 35
2. 3 <u>Nachweistechiken</u>	36 - 48
2. 3. 1 <u>Allgemeines</u>	36 - 38
2. 3. 2 <u>Spezielle Techniken</u>	38 - 48
2. 3. 2. 1 <u>Präzipitationstechniken</u>	38 - 44
2. 3. 2. 2 <u>Agglutinationstechniken</u>	44 - 46
2. 3. 2. 3 <u>Immunfluoreszenzoptische Techniken</u>	46 - 48
3 <u>S c h l u ß b e t r a c h t u n g e n</u>	49 - 51
4 <u>L i t e r a t u r</u>	52 - 81

1. E i n l e i t u n g

Die umfassende Literatur über das C-reaktive Protein (CRP), die seit Entdeckung dieses Eiweißkörpers im Jahre 1930 (siehe S. 2) sowohl in Übersichten (33, 47, in 74, 101, 102, 103, 143, 146, in 200, 202, 225) als auch in einer Vielzahl von Einzelmitteilungen¹⁾ ihren Niederschlag gefunden hat, läßt erkennen, wie aktuell bis heute die Frage nach Beziehungen zwischen dem Nachweis des CRP und der Existenz bestimmter Krankheitsprozesse oder -phasen einerseits, und wie wenig befriedigend die Kenntnisse über Wesen, Struktur und letztlich auch klinische Bedeutung des CRP andererseits, geblieben sind.

In der weitaus größten Zahl der Publikationen wird das CRP als ein pathologisches oder unter pathologischen Bedingungen freigesetztes Protein biologischer Flüssigkeiten, vorzugsweise des Serums und Plasmas, definiert, das in der Initialphase immunologischer bzw. entzündlicher sowie nekrotischer Prozesse, aber auch während akut-entzündlicher Schübe auf dem Boden chronisch-progredient verlaufender Erkrankungen in unterschiedlich hoher Konzentration in Erscheinung tritt (1, 5, 11, 20, 31, 33, 44, 50, 59, 72, 100, 103, 127, 129, 131, 132, 139, 173, in 202, 215, 231). Diese Zusammenhänge von akut-entzündlichen Vorgängen und serologischem Nachweis des CRP haben es mit sich gebracht, das CRP zu den "Akute-Phase-Proteinen" zu zählen, zu welchen sonst die Seromucoide der elektrophoretisch definierbaren α_1 - und α_2 -Globuline gehören.

1)

siehe in den einschlägigen folgenden Kapiteln

Entdeckt wurde das CRP 1930 von TILLET und FRANCIS (215). Die Autoren hatten aus Pneumokokkenstämmen neben den bis dahin bekannten Bakterienproteinen, einem typenspezifischen Kapselpolysaccharid und einem, allen Pneumokokken gemeinsamen, somatischen Nukleoprotein, eine dritte, dem Zytoplasma zuzuordnende Fraktion, die chemisch als reines Kohlenhydrat charakterisiert und die aus R- wie aus S-Pneumokokkenstämmen²⁾ gewonnen werden konnte, isoliert. Diese Kohlenhydratkomponente der Pneumokokken wurde von den Autoren als Fraktion C bezeichnet; sie erwies sich, wie das somatische Nukleoprotein als spezies- aber nicht typenspezifisch. Serologische Verlaufsuntersuchungen mit den drei Antigenen bei Patienten mit akuter Lobärpneumonie (verschiedener Typen) ergaben nach Art ihres zeitlichen Auftretens und der Dauer ihres Nachweises folgende Unterschiede: Mit der C-Fraktion konnte im akuten Stadium, zu- meist mit dem Fieber konform gehend, eine Präzipitations- reaktion (Titerhöhen um 1 : 320 000) nachgewiesen werden, die zwischen dem 6. und 8. Tag nach Krankheitsbeginn bzw. nach deren Auftreten abrupt zurückging. Mit dem soma- tischen Nukleoprotein ließ sich eine, vom Krankheitsbeginn (Manifestation !) an bis zu mehreren Wochen anhaltende, Präzipitationsreaktion mit relativ gleichbleibenden Titer- höhen um 1 : 20 000 demonstrieren. Das typenspezifische Kapselpolysaccharid hingegen, ergab eine Agglutinations- reaktion, die etwa am 9. Tag nach dem initialen Fieber deutlich wurde (Titerhöhen um 1 : 40) und die gegen Ende der 4. Woche allmählich abfiel (Abb. 1). Während die serolo- gisch faßbaren Phänomene der Reaktionen von Kapselpolysaccha- rid und Nukleoprotein bekannt waren, stellte die Präzipitations- reaktion mit der C-Fraktion ein Novum dar. Obwohl für TILLET und FRANCIS damals kein Zweifel darüber bestand, daß es sich hier um den Nachweis eines weiteren Antikörpers

2) R-Stämme = nicht-typenspezifisch; S-Stämme = typenspezifisch, z.B. Typ I, II, III, IV. Die für Testzwecke von TILLET und FRANCIS (s.o.) verwandte Fraktion C wurde vorwiegend aus dem R-Stamm isoliert.

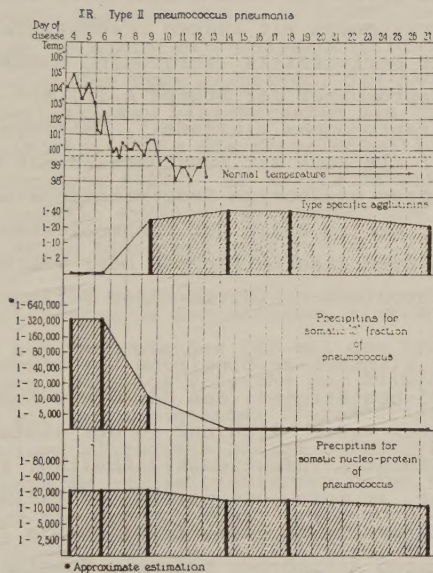


Abb. 1 Verhalten der typenspezifischen Agglutinations-, der somatischen C-Polysaccharid- sowie der somatischen Nukleoprotein-Titer im Verlaufe einer Typ II-Pneumokokken-Pneumonie.

Original-Abbildung aus TILLET and FRANCIS (Zitat Nr. 215).

gegen Pneumokokkenantigene handeln würde, so ergaben sich dennoch Interpretationsschwierigkeiten dieser Befunderhebung. Die Gründe hierfür lagen vor allem darin, daß nicht nur die Seren von Pneumoniekranken sondern auch solche von Patienten mit akutem rheumatischem Fieber sowie rheumatischer Pericarditis (vergrünend wachsende, hämolyisierende Streptokokken der Gruppe A !), mit akuter Endocarditis (*Streptococcus viridans*!), Osteomyelitis (*Staphylokokken*!) als auch mit Lungenabszeß mit der C-Substanz aus Pneumokokken eindeutige Präzipitationsreaktionen ergaben. Dies, wie im Falle der Pneumoniekranken, allerdings nur in der akuten Krankheitsphase oder während eines frischen Schubs bei chronisch-rezidivierenden Verlaufsformen.

Umfangreiche klinisch-serologische Untersuchungen von ASH (8) im Jahre 1933 bestätigten, daß der die C-Substanz präzipitierende Faktor tatsächlich nur in der akuten Phase, jedoch bei verschiedensten Infektionskrankheiten, insbesondere bei Salmonellen, im Serum entsprechender Patienten nachweisbar war. Er interpretierte diese Reaktion als eine unspezifische, d.h. nicht durch Antikörper bedingte Komplexbildung, und deklarierte das verantwortliche Serumprotein als das "mit C-Substanz (von Pneumokokken) reagierende Protein = C-reaktive Protein". Wenige Jahre später berichtete auch LÖFSTRÖM (127) anhand seiner serologischen Studien bei akut an Pneumonie Erkrankten über das Auftreten eines Präzipitatphänomens mit Fraktion C aus Pneumokokken. Damit wurde erstmals der Antikörpercharakter des CRP angezweifelt. Hinzu kam, daß 1941 ABERNETHY und AVERY (1) sowie MacLEOD und AVERY (131, 132) bei ersten Analysen zur Charakterisierung des CRP feststellten, daß das CRP, ein Glykolipoproteid, mit der C-Substanz aus Pneumokokken, anders als Immunglobuline, nur in Anwesenheit von Calcium-Ionen unter Bildung eines Präzipitats reagierte.

1942 beschrieb LÖFSTRÖM (128) eine "Kapselschwellungsreaktion" von Pneumokokken nach Kontakt mit Akute-Phase-Seren. 1944 konnte derselbe Autor im Rahmen vergleichender Untersuchungen an gereinigtem C-Polysaccharid und an intakten Pneumokokken des Typs 27 zeigen, daß Akute-Phase-Seren von Pneumoniekranken gleichermaßen die inzwischen bekannte Präzipitations- wie die Kapselschwellungsreaktion zu induzieren vermögen (129). Er schloß daraus, daß die "non-specific capsular swelling substance" und das CRP in entsprechenden Seren identisch sind.

In der Folgezeit wurden im wesentlichen klinisch-serologische Untersuchungen zum Nachweis des CRP bei den verschiedensten Krankheitsgruppen, außerdem Versuche zur Reindarstellung und zur chemischen wie immunologischen Charakterisierung vorgenommen, worauf im einzelnen einzugehen bleibt. Festgehalten wurde aber all die Jahre am unphysiologischen Wesen des CRP. So wurde das CRP als Produkt einer Gewebedestruktion (5, 35, 44, 101, 115, in 202) oder als Zerfallsprodukt aus Zellen, vor allem Leukozyten (35, 226), bei entzündlichen oder akut-nekrotisierenden Prozessen aufgefaßt.

In nur wenigen Mitteilungen wurde die Vermutung ausgesprochen, daß es sich beim CRP sehr wohl um ein "Normalprotein", etwa mit Vehikelfunktionen für Fremdanigene (einschließlich Haptene) handeln könnte (79, 164, 227, 228). Darüber hinaus wurden im Verlaufe des letzten Jahrzehnts Einzelmitteilungen über den Nachweis des CRP in der Schwangerschaft (in 55, 190, 204, 216), nach komplikationslos verlaufenden Operationen (9, in 55, in 202), aber auch bei völlig Gesunden (53, 55, 68, 79, 153, 195) bekannt.

Somit dürfte es sich bei dem CRP um ein physiologischerweise in biologischen Flüssigkeiten vorkommendes Protein handeln,

das außerhalb akuter Phasen in sehr niedrigen Konzentrationen vorliegt. Diese und eine Reihe anderer Beobachtungen aus jüngerer Zeit lassen es gerechtfertigt erscheinen, bisherige und insbesondere neuere Untersuchungsergebnisse über das CRP nachfolgend darzulegen.

2 Hauptteil

2. 1 Physikochemische und immunbiologische Eigenschaften des CRP

2. 1. 1 Molekularbiochemische- und molekularbiologische Eigenschaften

Untersuchungen an isoliertem menschlichen CRP des Plasmas sowie menschlicher Pleura- und Aszitesflüssigkeiten haben zu folgenden molekularchemischen Befunderhebungen geführt:

Die Sedimentationskonstante wurde von SCHULTZE et al. (201) mit $S_{20,w}^O = 7,5$ von KUSHNER et al. (117) mit $S_{20,w}^O = 6,6$ angegeben.

Der STOKESSche Radius wurde im Mittel mit $48,8 \text{ \AA}$ errechnet (117).

Das Molekulargewicht beträgt nach WOOD (231) 200 000, nach GOTSCHLICH und EDELMAN (61) zwischen 110 000 und 144 000, nach KUSHNER und SOMERVILLE (117) 135 000 bis 140 000. Sowohl von GOTSCHLICH et al. (61) als auch von KUSHNER et al. (117) wurden identische Polypeptid-Untereinheiten mit Molekulargewichten von jeweils zwischen 20 000 bis 24 000 nachgewiesen. Wahrscheinlich handelt es sich um sechs solcher Untereinheiten, die, entweder nichtcovalent (61) oder aber über Disulfidbrücken (117) gebunden, zu höhermolekularen Polymeren aggregieren können (185). Durch Merkaptane sowie durch Papain bzw. Merkuropapain wurden unterschiedliche, niedrigermolekulare - als das 140 000-Molekül - Dissoziations- bzw. Spaltprodukte des CRP mit jeweils immunologischer Identitätsreaktion dargestellt (62, 185).

Die Löslichkeit des CRP-Gesamt-moleküls sowie die Fähigkeit zu Spontandissoziation sind pH-abhängig. Bei pH-Werten von unter 7 wird z.B. das Protein unlöslich, bei pH-Werten über 9 beginnt es zu dissoziieren (62). RILEY et al. (185) wiesen darauf hin, daß bei der Reindarstellung des CRP aus Plasma, wahrscheinlich in Abhängigkeit von pH-Änderungen, Spontandissoziation in Gang kommen kann.

MCCARTY (139), später WOOD (229) sowie andere (79, 117) gelang die Darstellung kristallinen CRPs. Komplexbildungen des CRPs mit Mucopolysacchariden verhindern den Kristallisationsprozeß (78, 79).

Das CRP des menschlichen Serums und biologischer Flüssigkeiten ist ein Glykoproteid (in 200, 201, 231), wie dies an gereinigtem kristallinen CRP gezeigt werden konnte.

CRP findet sich häufig mit Lipoiden assoziiert (139, in 202, 231)³⁾. Daraus wurde die Frage abgeleitet, ob nicht auch zwischen CRP und normalen Lipoproteiden des Serums und anderer biologischer Flüssigkeiten Bindungen eingegangen werden können und ob CRP nicht selbst Lipoproteidnatur besitze. WOOD et al. (231) konnten bei ihren Versuchen zur Isolierung des CRP tatsächlich CRP-Lipoproteid-Präzipitate nachweisen, wenn sie die Ausgangslösungen (Serum, Aszites, Pleuraexudat) gegen Leitungs- oder destilliertes Wasser, das mit Ca^{2+} -Ionen versetzt war, dialysiert haben. Andere Untersucher konnten jedoch derartige Zusammenhänge unter Anwendung kombinierter immunologischer und biochemischer Technik, hier zum Lipoidnachweis, nicht bestätigen (56). Auch HOKAMA et al. (85) fanden ihre CRP-Präparate (aus Serum) frei von Lipoiden.

3) Beobachtungen an CRP menschlicher Seren wie auch am CxRP des Kaninchens

Diese Autoren haben allerdings zur Darstellung des C-reaktiven Proteins Lecithine verwandt, die, nach deren Auffassung, im Falle einer β -Lipoprotein-Ca²⁺-CRP-Komplexbildung, das β -Lipoprotein herauslösen und die Isolierung des CRP durch Freilegung der Bindungsstellen erleichtern könnten. Die letztgenannten Beobachtungen schließen nicht aus, daß Lipide als Teil eines Kohlenhydrat-Lipoid- oder eines Glyko-Lipoprotein-Antigens mit geeigneten determinanten Gruppen durch CRP gebunden werden können. VOLANAKIS und KAPLAN (221) diskutieren auf Grund ihrer CRP-C-Polysaccharid-Inhibitionsversuche erneut die Möglichkeit, daß z.B. das von ihnen gefundene Cholin-Phosphat als erfolgreicher Inhibitor nicht nur als vermutlicher Bestandteil der Pneumokokken-C-Fraktion sondern auch als wirksame Bindesubstanz zwischen Lipoprotein-Antigenen und CRP fungieren könnte.

Darüber hinaus bestehen Anhaltspunkte dafür, daß das CRP befähigt ist und außerdem dazu neigt, Komplexbildungen mit Mucopolysacchariden einzugehen (78, 79). An Mucopolysaccharid gebundenes CRP verhält sich elektrophoretisch anders als freies CRP, worauf im Zusammenhang einzugehen bleibt (siehe S.41).

Auf weitere Bindungsfähigkeiten des CRP mit einer Reihe biologischer wie experimentell eingesetzter, definierter Substanzen und auf die dafür verantwortlichen strukturellen Besonderheiten des CRP wird im folgenden Abschnitt über "Immunologische und immunchemische Eigenschaften" näher eingegangen werden.

Jüngste Ergebnisse über die partielle Aminosäuresequenz des menschlichen CRP sowie des CxRP des Kaninchens⁴⁾ haben

4) OSMAND, A.P., H. GEWURZ and B. FRIEDENSON: Partial amino-acid sequences of human and rabbit C-reactive protein: Homology with immunoglobulins and histocompatibility antigens. Proc. Acad.Sci. USA 74, 1214-1218 (1977)

ergeben, daß zwischen beiden speziesunterschiedlichen C-reaktiven Proteinen strukturelle Gemeinsamkeiten (Homologien) bestehen. Diese beziehen sich auf die NH_2 -endständigen, nicht-blockierten Aminosäuren des Kaninchen-CxRP und die Aminosäuren eines durch Bromcyan-Spaltung gewonnenen Bruchstückes des menschlichen CRP, als CNBr I bezeichnet. Bei diesen Arbeiten haben die Autoren die Feststellung gemacht, daß durch Bromcyan-Behandlung drei Spaltprodukte entstehen, von welchen zwei, in ihren Molekulargrößen sehr ähnliche, als CNBr I und CNBr II deklariert, durch Homoserin verbunden sein müssen. Das dritte Bruchstück, CNBr III, enthält das blockierte NH_2 -Ende des menschlichen CRP. Vergleichende Sequenzstudien zwischen CRP, Immunglobulinen und Histokompatibilitätsantigenen von Mensch und Kaninchen ergaben partielle Übereinstimmung verschiedener Regionen. Daraus schließen die Untersucher, daß für die genannten, im immunologischen Geschehen so aktiven Proteine und möglicherweise auch für das Komplementsystem ein gemeinsamer Ursprung mit Bezug auf die Evolution dieser Komponenten bestehe (Abb. 2).

Der Stickstoffgehalt gereinigten, kristallinen CRP wird mit 14,66 % angegeben (in 200, 201, in 202).

Einen völlig neuen Aspekt haben im Jahre 1967 HOKAMA et al. (83) aufgedeckt: Sie konnten im Experiment durch Applikation von Adjuvantien (FREUNDsches inkomplettes Adjuvans, Talk, 3-Amino-1,2,4-Triazol) nachweisen, daß der dadurch induzierte CRP-Spiegel ein umgekehrt proportionales Verhalten zu Katalaseaktivität zeigt und daß offenbar biochemische Beziehungen zwischen CRP-Subfraktionen und Hämoproteinen bestehen. Die Untersucher bezeichneten deshalb das CRP als "precursor sub-

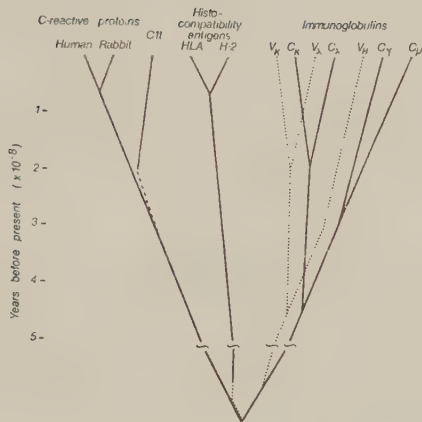


Abb. 2 Hypothetisches Schema über die evolutionären Wurzeln des C-reaktiven Proteins, der Histokompatibilitätsantigene und der Immunglobuline von Mensch, Kaninchen und Maus.

Original-Abbildung aus OSMAND et al.
(S. 8, Fußnote 4)).

unit of catalase". In späteren Arbeiten konnte dieselbe Forschergruppe durch Applikation von Hämatin im Vergleich zu unspezifischen Stimulantien (s.o.) und nachfolgende CRP- und Katalase-Bestimmungen im Serum sowie in verschiedenen Organen, wie Leber und Nieren, ihre früheren Befunderhebungen untermauern (80, 86, 157). Somit scheinen zwischen CRP und Katalase nicht nur physiko-chemische Gemeinsamkeiten sondern auch metabolische Wechselwirkungen zu bestehen.

2. 1. 2 Isoelektrischer Punkt und elektrophoretische Eigenschaften

Der ^{iso}elektrische Punkt des CRP liegt bei pH 4,82 (in 200, 202).

Auf Grund seiner Beweglichkeit im elektrophoretischen Feld bei Trennung im Agar- oder Agarosegel und Verwendung eines Azetatpuffers mit pH 8,6 verhält sich das CRP wie ein γ -Globulin, immunoelektrophoretisch etwa mit der Wanderungsgeschwindigkeit des IgA vergleichbar (7, 18, 19, 54, 57, 58, 74, 90, 107, 110, 124, 147, 185, 195, 214, 237, 239). Es versteht sich von selbst, daß die Zuordnung dieses Proteins zu einer der bekannten, elektrophoretisch definierbaren Serumfraktion (als Orientierungsstandard) entscheidend von methodischen Bedingungen der Elektrophorese, d.h. vom Trägermedium (freie Elektrophorese, d.h. nur Puffer, Papier, Celluloseacetat, Agar, Agarose, Stärkegel, Polyacrylamidgel), Puffersystem, sowie Trenndauer, einerseits, und von der Beschaffenheit des CRP, d.h. seiner Herkunft (Serum, Exsudate, Gewebe), dem Zustand nach Art seiner Aufbereitung (kristalline Form, polymere Form mit Molekulargewicht von 140 000 oder Subfraktionen mit Molekulargewicht von 23 000) sowie schließ-

lich von CRP-Komplexen mit Phosphaten oder Mucopoly-sacchariden, andererseits, abhängig ist. Im folgenden können deshalb nur die wesentlichen Aspekte der in der Literatur bekanntgewordenen Befunde herausgestellt werden. Widersprüchliche Elektrophorese-Ergebnisse des älteren Schrifttums, in welchen das CRP als α - (173) oder als β_1 -Globulin (17, 44) identifiziert wurde, müssen deshalb entweder mit elektrophorese-technisch bedingten Unterschieden oder aber mit molekularen Besonderheiten des CRP erklärt werden. Unter Anwendung der Polyacrylamidgel-Elektrophorese konnten im Rahmen von Isolierungsarbeiten mehrere Subfraktionen mit elektrophoretischen Positionen vom Prä- und Postalbuminbereich über α -Globuline bis in den extrem kathodennah gelegenen Bereich gesehen werden (76). Immunologische Studien vergleichbarer Arbeiten (76, 78, 79, 185) ergaben jedoch, daß nur die im γ -Globulinbereich gelegene Fraktion CRP-positiv war. Allerdings zeigten sich hier gewisse Unterschiede in der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit, und zwar in Abhängigkeit davon, ob CRP als kristallines Protein oder komplexiert mit Mucopolysacchariden vorgelegen hat. SCHEIFFARTH und GÖTZ (195) sowie GÖTZ et al. (54, 58) konnten immunelektrophoretisch (im Agargel, Acetatpuffer pH 8,6) drei unterschiedliche Präzipitationsphänomene bzw. Positionen des CRP aus dem umfangreichen Untersuchungsgut CRP-positiver Patientenserum herausstellen:

Typ CRP 1: Relativ langgestreckte, gedoppelte Präzipitationslinie, die im Vergleich mit einem mit polyspezifischem Antiserum dargestellten Vollserum im Immunglobulinbereich, geringfügig unterhalb (nach innen) der IgG-Linie verläuft.

Typ CRP 2: Relativ kathodisch gelegene (γ_2 -Bereich) und kurzbogige Präzipitationslinie.

Typ CRP 3: Relativ schneller wandernde (β_2 - bzw. γ_1 -Bereich) und ebenfalls kurzbogige Präzipitationslinie.

Am häufigsten fanden sich die Typen 1 und 2 (siehe auch Abb. 7, S. 43). HORNING und FRITSCHI (90) beschrieben ihre an über 300 CRP-positiven Seren erhobenen immunoelektrophoretischen Befunde als Präzipitationslinien mit einer Wanderungsgeschwindigkeit vergleichbar dem IgA, jedoch mit relativ geringerer Diffusionsfähigkeit. Somit erscheint die CRP-Fraktion mehr in Höhe der Auftragsstelle gelegen, IgA näher dem Antiserumkanal zugewandt. Die Autoren fanden zwei Varianten des CRP, die sich durch geringfügige Unterschiede in der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit charakterisieren ließen. Die eine Variante fand sich, mit Bezug auf die Auftragsstelle, stärker anodisch, die andere mehr zur Kathode hin verlagert.

Elektrophoretische Studien von KINDMARK (42, 109) mittels zweidimensionaler Immunelektrophorese in mit EDTA versetzten Agarosegelen ergaben, daß das CRP, in Abhängigkeit von der Isolierungsmethode, zwar vorwiegend im β -Globulin-, in Einzelfällen aber auch im α - oder α/β -Globulin-Bereich nachweisbar wurde. So zeigten z.B. die mit *Diplococcus pneumoniae* -, mit *Staphylococcus aureus* und die mit Zymosan gebundenen und anschließend über EDTA-BS-Lösung⁵⁾ eluierten CRP-Präparate eine elektrophoretische Beweglichkeit wie β -Globuline, die über *Escherichia coli* gewonnen CRP-Fraktionen teilweise β -, teilweise aber auch α - sowie α/β -Mobilität. In Einzelbeispielen der

⁵⁾ mit Äthylen-Diamin-Tetra-Essigsäure (ethylene-diamine-tetraacetic acid) versetzte "Balanced Salt"-Lösung

Zymosanextraktionen zeigten die Eluate sogar eine Proteinbande im Albumin-Bereich, die jedoch weder mit einer der bekannten Serumproteinfraktionen noch mit CRP immunologisch zu identifizieren war. Dieses Phänomen kann, wie die Autoren selbst vermuten, und wie auch früher von anderer Seite diskutiert wurde (76), mit dem Auftreten von Bakterien-CRP-Zwischenprodukten während des Isolierungsganges interpretiert werden.

Die Frage, ob es sich bei dem dargelegten elektrophoretischen Polymorphismus des CRP um den Ausdruck molekularer Polymerer bzw. um die Darstellung von Dissoziationsphänomenen handelt, kann allein auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse nicht ohne weiteres beantwortet werden. Auch kann nicht ausgeschlossen werden, daß in derartige Befunde genetische Polymorphismen des CRP mit eingeflossen und daß etwa durch die Vehikelfunktion dieses Proteins sowohl molekular als auch ionisch wirksame Unterschiede zum Tragen gekommen sind, worauf Autoren der älteren (76, 78, 139, in 202, 231) und im übrigen auch der neueren Literatur (42, 57, 90, 97, 107, 109, 117, 171, 195) hingewiesen haben.

Studien von HOKAMA et al. (87) an Kaninchen CxRP haben ergeben, daß auch beim Kaninchen mindestens zwei CRP-Fraktionen mit unterschiedlicher elektrophoretischer Wanderungsgeschwindigkeit nachweisbar werden, die eine im β -, die andere im γ -Globulinbereich. Nach Adjuvansinjektion kam es im wesentlichen zu einer Vermehrung der β -Komponente, nicht jedoch der γ -Fraktion. Bei Injektion von Hämatin, auf deren Bedeutung bereits eingegangen wurde (siehe S. 10), zeigte sich jedoch vorwiegend die γ -Fraktion als vermehrt. Daraus haben die Autoren den Schluß gezogen, daß die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit

des CRP u.a. von der Art des gebundenen Antigens mitbestimmt wird.

2. 1. 3 Immunologische und immunchemische Eigenschaften

Eine der bereits früh entdeckten und für das C-reaktive Protein namensgebenden Eigenschaften ist die Fähigkeit des CRP, mit typenunspezifischem, somatischem C-Pneumokokkenpolysaccharid ein unlösliches Präzipitat zu bilden. Wesentlich ist dabei, daß diese Reaktion nur in Gegenwart von Calcium-Ionen (Ca^{2+}) erfolgt (1, 215). Die Bindung des CRP an C-Polysaccharid intakter Pneumokokken induziert darüber hinaus eine Kapselschwellungsreaktion (128).

Forschungsarbeit der folgenden Jahre, insbesondere aber die immunchemischen Analysen von GOTSCHLICH und LIU (63) haben ergeben, daß das C-Polysaccharid aus autolyseierter Pneumokokken-Kapselsubstanz aus zwei quervernetzten Polymeren, das eine ein Mucopепtid-Polymer, das muraminsaures Phosphat enthält, das andere ein N-Acetyl-Galactosamin-Phosphat-Polymer, aufgebaut ist. Letzteres soll die entscheidenden Antigendeterminanten für die Bindung sowohl mit CRP als auch mit spezifischen Antikörpern repräsentieren. Andere Autoren sehen die spezifische Bindungsfähigkeit über Uridin-5-Monophosphat-Reste der C-Fraktion (in 85). Die Reaktion des CRP mit C-Polysaccharid setzt nach den Ergebnissen dieser Untersuchungsgruppe die Existenz divalenter Kationen des CRP voraus, die mit dem, seinem Wesen nach, polyanionischen, hoch phosphorylierten Kohlenhydrat (= C-Substanz) in Wechselwirkung treten. Auch hier ist die Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen für den Ablauf der Präzipitatbildung ein wichtiges Erfordernis. GOTSCHLICH und

EDELMAN (62) konnten, unter Anwendung von Äquilibrium-dialyse sowie Inhibitionsversuchen an der CRP-C-Polysaccharid-Bindungsreaktion zeigen, daß Adenosin-5-Monophosphat (AMP), ebenso wie Uridin-5-Monophosphat (UMP), aber auch α -Glycerophosphat, Cytidin-5-Monophosphat (CMP) diese Reaktion zu unterbinden vermögen. Daraus war der Schluß zu ziehen, daß die genannten Monophosphate für die Komplexbildung von CRP und C-Substanz grundsätzlich verantwortlich gemacht werden können. Die Autoren haben darüber hinaus demonstrieren können, daß die organischen Gruppen der untersuchten Phosphatverbindungen allein, keine Inhibierung der CRP-C-Polysaccharid-Reaktion zu bewirken vermochten. GOTSCHLICH und EDELMAN (62) nehmen an, daß die Spezifität der Reaktion zwischen CRP und C-Polysaccharid nicht nur über Monophosphate sondern auch über sekundäre Phosphatgruppen erfolgen kann. Erwähnenswert aus der zitierten, umfangreichen Arbeit sind u.a. die Feststellungen, daß jede der wahrscheinlich 6 Subfraktionen des CRP (MW 23 000) eine Valenz zur Bindung eines Monophosphatester-Moleküls besitzt, daß aber die Bindungen nur am CRP-Komplex (MW 140 000), also nicht an isolierten Subfraktionen, erfolgen kann. Die Valenz des CRP zur Bindung von Ca^{2+} -Ionen wird mit 1,5 bis 2,0 Calcium-Ionen pro Untereinheit angenommen. Obwohl noch eine Reihe von Fragen zum tatsächlichen Ablauf der Wechselbeziehungen zwischen CRP und C-Polysaccharid offen steht, so ergeben sich keine Bedenken gegen die Vorstellung von GOTSCHLICH und EDELMAN (62), daß vor der Phosphatbindung durch das CRP die Ca^{2+} -Bindung am CRP erfolgt sein muß.

Bereits TILLET und FRANCIS (215) haben festgestellt, daß nicht nur die C-Polysaccharid-Fraktion aus Pneumokokken sondern eine Reihe anderer bakterieller Antigene mit einem

im Serum akut Erkrankter nachweisbaren Protein- wie man heute weiß, dem C-reaktiven Protein - eine Präzipitationsreaktion einzugehen vermag (siehe S. 4).

McCARTY (139) berichtete darüber hinaus über Untersuchungsergebnisse, in welchen er CRP in Tris-HCl-Puffer (0,05 M; pH 8,0), der zu 0,01 M mit CaCl_2 versetzt war, mit Kalbsthymus-DNS, ferner mit Leber-RNS vom Kaninchen sowie mit Streptokokken-Polyglycerophosphat zur Reaktion brachte, die jeweils mit Präzipitatbildung einherging. Im Gegensatz zur Präzipitation des CRP mit C-Polysaccharid aus Pneumokokken verliefen die von McCARTY gezeigten Reaktionen bei wesentlich niedriger Ionenstärke und in zwei Beispielen, offensichtlich ohne die Anwesenheit von Phosphaten. Tatsächlich werden auch andere, saure Polymere, wie Dextransulfat sowie Heparin (97, 239), wahrscheinlich auch Agar und Agarose (78), in Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen unter Bildung von Präzipitaten durch CRP gebunden. Andererseits können praktisch alle Substanzen, die mit freien Phosphorsäure-Resten ausgestattet sind - oder ausgestattet werden -, wie z.B. Cellulose Typ P, durch CRP präzipitiert werden.

VOLANAKIS und KAPLAN (221) konnten auf Grund ihrer Versuche zur Inhibierung der CRP-Pneumokokken-C-Polysaccharid-Reaktion unter Verwendung von Cholin-Phosphat und einer Reihe organischer Phosphat-Monoester⁶⁾ zeigen, daß Cholin-Phosphat die wirksamste Hemmsubstanz war, und daß dieses wohl auch die entscheidende Bindungsstelle des C-Polysaccharids für CRP repräsentieren würde. Dies steht im Einklang mit Untersuchungsergebnissen anderer Autoren,

6) Außer Cholin-Phosphat-Chlorid wurden folgende organische Phosphat-Monoester von den Autoren untersucht: o-Phosphoryl-Aethanolamin, DL- α -Glycerophosphoryl-Cholin, L- α -Glycerophosphoryl-Cholin, β -Glycerophosphat, Cholin-Base, UMP, AMP, CMP. Die Substanzen wurden in Imidazol-gepufferter physiologischer NaCl-Lösung (pH 7,5), die zu 0,01% mit CaCl_2 versetzt war, aufgenommen.

wonach Phosphoryl-Cholin in der C-Substanz von Pneumokokken und anderen Bakterien, aber auch in Pilzen enthalten ist (in 97, 170). Außer Phosphoryl-Cholin und den bereits erwähnten N-Acetyl-Galactosamin und Glucose (63) wurden an isoliertem C-Polysaccharid auch N-Acetyl-Diamino-Trideoxihexose sowie Ribitol-Phosphat (97) nachgewiesen.

HOKAMA et al (85) fanden, daß CRP außer Phosphaten auch L- α -Lecithin und DL-Lecithin unter Präzipitattbildung zu binden vermag. Die Autoren nutzten diesen Effekt, um CRP aus Serum wie aus Leber zu isolieren und weitgehend gereinigt darzustellen (siehe auch S.34).

Auf die Bindungsfähigkeit des CRP von Sulfatgruppen wurde bereits hingewiesen (42, 97, 239). Diese Eigenschaft gewinnt insoweit an Bedeutung als Sulfatgruppen, ähnlich wie Phosphatverbindungen, in einer Vielzahl von Mikroorganismen enthalten sind. Außerdem wurde in jüngster Zeit mit Protaminsulfat eine neue immunologische Besonderheit des CRP entdeckt, nämlich die Aktivierung von Komplement im Gefolge einer CRP-Protaminsulfat-Bindungsreaktion (206), worauf im Zusammenhang noch einzugehen bleibt.

C-Substanz-identische, wenigstens aber -ähnliche Glykopeptide- sind in einer Reihe pathogener sowie parasitärer bzw. saprophytischer Keime, aber auch in pflanzlichen Substanzen vertreten (170). Es überrascht deshalb nicht, daß CRP mit entsprechenden Organismen zu reagieren vermag, wie dies die ältere einschlägige Literatur bereits festgestellt hat. In neuerer Zeit konnten GANROT und KINDMARK (42) sowie KINDMARK (108, 109) in Adsorptionsstudien mit isolierten CRP-Fractionen an *Diplococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylo-*

coccus aureus sowie Zymosan zeigen, daß Pneumokokken sowie Coli-Bakterien das CRP optimal, Staphylokokken und Zymosan dagegen nur zu einem geringen Prozentsatz zu binden vermögen. Die Reaktionen erfolgten wiederum nur in Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen. Die Untersucher sahen in der Bindung des CRP an Bakterienoberflächen eine Art Opsonin-Funktion mit dem Ziel, die Phagozytose dieser Komplexe zu begünstigen (43, 109), wie dies früher schon von WOOD (227, 228) sowie von HOKAMA et al. (77), später auch von anderer Seite (49) angenommen worden ist. Die Frage, ob hier eine andere Form der Bindung des CRP an C-Polysaccharid oder an eine andere determinante Gruppe der Bakterienmembranen als bei der Präzipitation löslicher Reaktionspartner vorliegt, oder ob Präzipitation an den Bakterienoberflächen erfolgt, bedarf der weiteren Dokumentation.

Ungeachtet dessen, ist CRP unter bestimmten Bedingungen in der Lage, Agglutination zellulärer Elemente zu bewirken (78, 167, 169). Dies wahrscheinlich, wie in den vorgenannten Beispielen, über die Bindung des CRP an Membran-Antigene von Zellen und/oder Mikroorganismen. Hier können u.a. Mucopolysaccharide eine Rolle spielen, wie dies HOKAMA et al. (77, 78, 79, 82, 84) an ihren Untersuchungen des CRP verschiedener Patientenserum gesehen haben. Sie stellten fest, daß CRP tatsächlich mit Mucopolysacchariden des eigenen Serums, die sich mit Blutgruppensubstanzen O (H) und LEWIS (Le^a , Le^b) als verwandt - oder sogar identisch - erwiesen haben, Komplexe einzugehen vermag. Solche Komplexe zeigten bei Vergleich mit freiem CRP, eine geringere elektrophoretische Beweglichkeit und außerdem vielfach eine Doppelbogigkeit des Immunpräzipitats (nach Elektrophorese). In dieser immunologischen Eigenschaft des CRP sehen die Autoren die Möglichkeit, Gram-negative Bakterien, deren

Kapselantigene immunologische Gemeinsamkeiten mit Blutgruppensubstanz O (H) besitzen, zu agglutinieren oder sie der Phagozytose durch Opsonierung oder Leukozyten-Stimulierung (82, 84) zuzuführen. Sie diskutieren aber auch eine Art Clearance-Funktion überschüssiger, d.h. etwa im Gefolge von Zell- oder Gewebedestruktion freigewordener, Blutgruppensubstanzen durch Komplexbildung mit CRP.

Einen Phagozytose-stimulierenden Effekt des CRP

hat auch IWASZKO-KRAWCZUK (92) bei Neugeborenen gesehen. Die Autoren haben auf Grund ihrer klinisch-serologischen und therapeutischen Erfahrungen die Bedeutung mütterlichen sowie allogenen CRP im Sinne eines unspezifischen, serologischen und geweblichen Immunkompaktors Neugeborener, deren spezifische Antikörperbildung erst in Gang kommen muß, herausgestellt.

PATTERSON et al. (167) berichteten bereits 1965 über direkte Agglutinationsphänomene von Bakterien durch die Interaktion mit CRP. Die Untersucher induzierten, zuerst nur an Mäusen (167), später sowohl an Mäusen als auch an Kaninchen (169) durch Applikation verschiedener Konzentrationen von E. coli-Endotoxin unterschiedlich hohe CRP-Spiegel. Nach zusätzlicher Behandlung der Tiere mit Staphylococcus aureus-Aufschwemmungen wurden das quantitative Verhalten des CRP und polymorphkerniger Leukozyten, einerseits, sowie des CRP und "unspezifischer Resistenz" gegenüber Staphylokokken, andererseits, geprüft. Es ergaben sich eine direkte, d.h. weitgehend parallel verlaufende Beziehung zwischen CRP-Spiegel und Zahl der polymorphkernigen Leukozyten im peripheren Blut und, ebenso, eine direkte, strenge Korrelation zwischen CRP-Konzentration und Intensität des "Abwehr(=Bindungs-)vermögens" gegenüber Staphylokokken. Die Autoren schlossen aus diesen Beobachtungstatsachen - damals schon! - auf

die Möglichkeit einer leukozyten-aktivierenden und außerdem opsonierenden Eigenschaft des CRP. Dies steht im übrigen im Einklang mit - nochmals um etwa 10 Jahre älteren - Arbeiten von WOOD (226), in welchen an Hand serologischer Studien mit gereinigtem, menschlichem CRP nachgewiesen werden konnte, daß CRP die Migration polymorphkerniger Leukozyten stimuliert. Auch RILEY und HOKAMA (186) beobachteten nach Applikation, hier ihres "Akute-Phase-Seromukoids", das heute als identisch mit dem CRP betrachtet werden darf, eine Anreicherung polymorphkerniger Leukozyten in Geweben und im peripheren Blut.

PATTERSON et al (167) konnten außer den CRP-verursachten Agglutinationsreaktionen von Staphylococcus aureus, in einer anderen Versuchsreihe unter Verwendung von Micrococcus lysodeicticus, wiederum nach vorangegangener Endotoxinapplikation und CRP-Induktion, Lysisphänomene an den Mikrokokken beobachten.

In jüngeren Jahren wurden von verschiedener Seite immunologische Wechselwirkungen zwischen CRP und Lymphozyten bzw. lymphoidzelligen Elementen des Immunsystems festgestellt (39, 89, 90). So ergaben sich konkrete Hinweise dafür, daß CRP die Reifung des immunologisch kompetenten Systems zu beschleunigen vermag. Dies wurde durch tierexperimentelle Studien von FRYAZINOVA (39) aufgedeckt, die an immunologisch unreifen Kaninchen nach Gabe von Pferde- γ -Globulin und CRP, Antikörper-Bestimmungen durchgeführt und dabei eine direkte Korrelation zwischen CRP-Konzentration und Titerhöhe des anti-Pferde- γ -Globulins gefunden hat. In einer anderen Studie (90) konnte gezeigt werden, daß rein dargestelltes CRP Lymphozyten zu stimulieren oder zytotoxisch zu lysieren imstande ist, eine Beobachtung, die schon RILEY und HOKAMA 1969 (186)

nach Injektion ihres "Akute-Phase-Seromukoids" - in offenbar hohen Dosen - gemacht haben: Sie sahen ein Absinken der Lymphozyten des peripheren Blutes um 50 bis 75% der Ausgangskonzentration (vor Behandlung). Stimulation und Zytotoxizität erwiesen sich auf Grund der Arbeiten von HORNUNG und FRITSCHI (90) als abhängig von der Konzentration des verabreichten bzw. induzierten CRP. Die Bindungsfähigkeit des CRP an Lymphozytenoberflächen wird damit erklärt, daß Lymphozytenmembranen, ebenso wie z.B. Pneumokokken-Kapselsubstanz phosphorylierte Kohlenhydrate besitzen.

Auf Grund einer prinzipiell gleichartigen Erfahrung mit durch CRP stimulierten Lymphozyten konnte HORNUNG (89) an Melanomzellkulturen deutlich machen, daß die immunologische Aktivität zugemischter allogener Lymphozyten durch Applikation von gereinigtem CRP in optimalen Dosen ($16\mu\text{g CRP}/10^6$ Lymphozyten) innerhalb von 72 Std. eine komplette Hemmung des Tumorzellwachstums und in 75% Zelltod bewirkten. Lymphozyten allein, ebenso wie CRP allein, hatten keine nennenswerten Effekte auf das Verhalten der Melanomzellkulturen im Vergleich zu völlig unbehandelten Tumorzellen. Niedrigere CRP-Konzentrationen hatten einen geringeren Hemmeffekt auf das Tumorzellwachstum als die oben genannten optimalen Dosen, wesentlich höhere CRP-Konzentrationen wirkten auf die allo genen Lymphozyten zytotoxisch.

Ob sich aus diesen Beobachtungen Konsequenzen für die klinische Praxis, etwa im Sinne eines therapeutisch wirksamen Einsatzes des CRP, ableiten lassen, muß derzeit noch als fragwürdig erscheinen. Dies deshalb, weil aus experimentellen Untersuchungsergebnissen bekannt ist, daß schon relativ geringe Konzentrationen allo genen CRPs z.B. Leberzellnekrosen verursachen (siehe S.27) und wahrscheinlich auch Alloantikörper induzieren können.

Die Möglichkeit, daß CRP auch an Tumorzellmembranen fixiert werden kann, wurde auf Grund immunfluoreszenz-optisch erhobener Befunde eines unausgewählten Krankenguts von Patienten mit verschiedenen Solitärtumoren (siehe Abb.10) zur Diskussion gestellt⁷⁾. Es gilt immerhin als gesichert, daß eine Reihe membrangebundener oder -integrierter Tumorzellantigene phosphorylierte Glykopeptide enthalten, die bekanntlich mit CRP unter Bildung von Komplexen reagieren können.

Die von HORNUNG (89, 90) gemachten und ähnliche Beobachtungen (95, 126, 158, 223) über die mitogene Wirksamkeit des CRP an (T-abhängigen) lymphoiden Zellen des peripheren Blutes sind nicht ganz ohne Widerspruch geblieben. So haben HOKAMA et al. (84) in ihren in-vitro-Versuchen festgestellt, daß CRP-positive Patientenserum sowie gereinigtes CRP allogene Lymphozyten nicht zu stimulieren vermögen. CRP hemme vielmehr die durch Phythäm-agglutinin induzierbare mitogene Reaktionsweise dieser mit CRP besetzten Lymphozyten. MORTENSEN et al. (siehe bei OSMAND et al., S. 8), Fußnote!) prüften mit Hilfe immunfluoreszenzoptischer Methoden sowie mit Techniken zur Induktion und Beurteilung immunologischer Zellreaktionen das Verhalten gereinigten CRP auf angereicherte T- sowie B-Lymphoidzell-Suspensionen. Sie fanden, daß sich CRP nahezu ausschließlich an T-Zellen in Form fleckiger Aggregate an (oder in) deren Membranen an-(oder ein-) lagert. Dies im übrigen nicht nur an allogene sondern auch an xenogene T-Lymphozyten (Marmoset-Affe, Maus). Auf Grund des "patchy" Fluoreszenzphänomens darf

⁷⁾ GÖTZ, H., E.S. BÜCHERL, U. RENGSHAUSEN, H.G. BEGER und E. HASENCLEVE
Nachweis von Organ-Antikörpern, CRP, AFP und HB-Antigen bei Patienten
mit Solitärtumoren.

1. Internationales Symposium über "Angewandte Tumorummunologie",
Berlin, 17./18. Nov. 1972.

angenommen werden, daß CRP, in Abständen verteilt, in der Cholin-Phosphatid-haltigen Lipidschicht fixiert wird. Die Bindung des CRP an T-Lymphozyten beeinflusst einige immunologisch faßbare Funktionen dieser Zellen. So hemmt sie z.B. die Fähigkeit, mit Schafserythrozyten Spontanrosetten zu bilden. Sie unterbindet aber ebenso die Immunreaktion gegenüber allogenen Zellen in der gemischten Lymphozyten-Kultur. Entgegen den Beobachtungen von HOKAMA et al. (84) beeinträchtigt die Bindung des CRP an T-Lymphozyten jedoch deren mitogene Stimulierbarkeit durch Phythämagglutinin oder Concanavalin-A nicht. Es konnte allenfalls eine geringfügige Steigerung der Transformationsrate gesehen werden, die allerdings mit den Feststellungen von HORNUNG und FRITSCHI (89, 90)) nicht zu vergleichen war. Die Autoren diskutierten technische Unterschiedlichkeiten sowie Unterschiede im Untersuchungsgut (T-Zell-Subpopulationen ?!), die für die erwähnten Diskrepanzen in den Ergebnissen der einzelnen Untersuchergruppen verantwortlich gemacht werden könnten.

Ungeachtet einzelner noch offener Fragen auf diesem Sektor, unterstreichen die neueren Ergebnisse über Wechselwirkungen zwischen CRP und lymphoiden Zellen die bereits vor 20 Jahren von WOOD (227, 228) aufgestellte Hypothese, daß dem CRP eine entscheidende Vermittlerrolle zwischen sogenannten unspezifischen Antigen-Erkennungs- und Phagozytose-Aufgaben und spezifischen, d.h. Antikörper- sowie Lymphoidzell-abhängigen Immunreaktionen zukommt.

CRP tritt schließlich, was zelluläre Elemente des Blutes und der Gewebe anlangt, nicht nur mit Leukozyten, Lymphozyten und, gegebenenfalls, mit Erythrozyten, sondern auch mit Thrombozyten in Beziehung. Es bewirkt, wenn an Thrombo-

zyten verhaftet, eine Hemmung der Plättchenaggregation und trägt auf diese Weise zu einer Verzögerung des Gerinnungsvorganges bei. Inwieweit hier Beziehungen zum Komplementsystem zu sehen sind (siehe auch S.25), kann auf Grund der vorliegenden Einzelmitteilung (206) nicht beurteilt werden.

Einen völlig neuen Aspekt zur Reaktionsweise des CRP haben KAPLAN und VOLANAKIS (97, 222) aufgedeckt⁸⁾, indem sie immunserologisch nachweisen konnten, daß sowohl CRP-positive Seren als auch gereinigtes kristallines CRP, mit Pneumokokken-C-Polysaccharid, ebenso wie mit Lecithin sowie mit Sphingomyelin, in äquivalenten Konzentrationen gebunden, zu 80% die Komplementkomponenten C1, C4 und C2, und zu 42 bis 66% die Komponenten C3, C5, C6, C7, C8 und C9 zu aktivieren bzw. zu konsumieren vermochten. Antikörper-bedingter Komplementverbrauch war in den Versuchen ausgeschlossen worden. Phosphoryl-Cholin, nicht aber das C-Polysaccharid-spezifische, Antikörper-bindende N-Acetyl-Galactosamin, unterband die Komplementaktivierung zu 100%. Entsprechende Versuche unter Verwendung von Meerschweinchen-Komplement verliefen nicht so erfolgreich. Jedoch vermochte der Zusatz geringer Mengen isolierten C1q aus menschlichem Serum die Reaktionskette unter Verbrauch der Meerschweinchen C-Komponenten in Gang zu bringen.

Die Untersuchungsergebnisse beweisen, daß CRP-C-Polysaccharid- sowie CRP-Cholin-Phosphatid-Komplexe Komplement nach Art des sogenannten "Classical Pathway" zu induzieren vermögen. Hiermit würde das CRP funktionell wieder in die Nähe von Antikörpern gerückt werden (172).

8) Obwohl schon von anderer Seite auf Beziehungen zwischen CRP-Antigen-Komplexen und Komplementaktivierung hingewiesen worden war (138), haben diese Autoren die wahren Zusammenhänge in einer Reihe von in-vitro-Versuchen aufzuzeigen vermocht.

In Fortführung der Untersuchungen solcher Zusammenhänge haben SIEGEL et al. (206) in umfangreichen Studien nachweisen können, daß eine Reihe von Polykationen, darunter Protamin-Sulfat und Lysine, mit CRP, ebenfalls unter Aktivierung des C-Systems, beginnend mit C1-, C4- und C2-Verbrauch, reagieren. Sie stellten fest, daß die Komplement-Konsumption abhängig ist von einer Reihe von Parametern, so z.B. von der Präinkubationszeit der Reaktionspartner (optimal 60 Minuten), der Temperatur, bei welcher die Reaktionen ablaufen (optimal zwischen 30 und 37°C), dem pH (optimal zwischen pH 7,5 und pH 8), der Salzkonzentration (optimale Molarität von 0,10 M) sowie vom Molekulargewicht des an CRP gebundenen Faktors. Poly-L-Lysine mit Molekulargewichten zwischen 2 000 und 8 000 bewirkten nach den vorliegenden Befunderhebungen die beste C-Aktivierung, solche mit Molekulargewichten zwischen 1 700 und 11 000 bzw. 23 000 nur mittelmäßige C-Konsumption, L-Lysin, Lysyl-L-Lysin sowie Tetra-L-Lysin mit Molekulargewichten zwischen 70 000 und 400 000 keinen Komplementverbrauch. Letztgenannte hochmolekulare Substanzen unterbanden sogar die C-Aktivierung, wenn CRP mit diesen präinkubiert und im nachhinein mit Lysinen niedrigerer Molekulargewichte versetzt worden war. Poly-L-Lysine aktivieren, wie eine Reihe natürlich vorkommender Polykationen, so Myelin-Basisproteine, Proteine aus Kaninchen-Leukozyten, Lysin- sowie Arginin-reiche Histone, sowie C-Polysaccharid, die Komplement-Kette C1, C4, C2 sowie C3 und C5 bis C9 in vollem Umfange. Aus den Untersuchungsergebnissen schlossen die Autoren, daß Polykationen und Phosphatester mit den gleichen oder überlappenden Bindestellen des CRP reagieren müssen.

Ebenfalls von SIEGEL et al. (206) wurde gezeigt, daß CRP, das über Pneumokokken-C-Polysaccharid an Schafserythrozyten gebunden worden war, unter Verbrauch von Komplement aus hinzugefügtem, menschlichem Serum Hämolyse bewirkt. Auch Meerschweinchen-Komplement führte zu einer entsprechenden Reaktion. Antikörper gegen C-Polysaccharid oder CRP waren ausgeschlossen worden. C6-defekte Humanseren sowie C4-defekte Meerschweinchenseren vermochten die Hämolyse nicht zu induzieren, worin die Autoren die Beweisführung für die Komplementabhängigkeit der Hämolyse sehen.

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Induzierbarkeit des CRP, seines Auftretens im Blut und in Körperflüssigkeiten nach entsprechendem Reiz sowie zur Frage des Schicksals des CRP selbst, etwa nach seiner Applikation als Therapeutikum, haben, zufolge des vorwiegend älteren Schrifttums (6, 26, 28, 39, 76, 77, 80, 96, 115, 116, 117, 118, 129, 130, 131, 132, 144, 167, 168, 169, 183, 184, 226, 227, 228) nachstehend aufgeführte Besonderheiten erkennen lassen: Nach Setzen eines unspezifischen Reizes, etwa mit FREUNDschem, inkomplettem Adjuvans, oder mit Terpentin, kann beim Kaninchen CxRP bereits 4 Stunden nach Behandlung im Serum (erhöht)⁹⁾ nachgewiesen werden (0,3 µg N/ml). Die höchsten CRP-Werte werden zwischen 24 und 48 Stunden nach Injektion gefunden (29, 118, 227, 228). Sie halten bis zu 3 Tagen an, um dann allmählich abzusinken und mit dem 8. bis 10. Tag nach Setzen der Läsion aus dem Serum verschwunden zu sein. Am Beispiel der experimentellen Arthritis, die entweder mit hitzeaggregiertem Gammaglobulin oder mit Crotonöl induziert worden war, konnte CxRP im Serum 4 bis

⁹⁾ Nachweis des CRP damals mit semiquantitativen Präzipitations-Techniken sowie mit Bestimmung des N-Gehaltes an C-Polysaccharid-gebundenem CRP.

6 Stunden, in der Synovialflüssigkeit aber erst 12 bis 15 Stunden nach Behandlung festgestellt und von da an weiterverfolgt werden (118). Die höchsten CRP-Konzentrationen wurden auch hier, und zwar sowohl im Serum als auch in der Synovialflüssigkeit, 48 Stunden nach erfolgter Läsion beobachtet. Die Applikation allogenen CxRPs mit (227, 228) und ohne (26) FREUNDSchem Adjuvans führte einerseits zu starken lokalen Entzündungsreaktionen und zu Leberzellnekrosen, andererseits zu hohen CRP-Konzentrationen im Serum, wohl im Sinne einer Induktion autologen CRPs. Desgleichen bewirkte bei der Ratte die intrakutane Verabreichung von Leberzell- sowie von Leukozyten-Fraktionen die Synthese (oder Aktivierung) Akuter-Phase-Proteine, hier vor allem eines α_1 -Glykoproteins (28, 29), das wahrscheinlich mit dem CRP des Menschen und dem CxRP des Kaninchens vergleichbar ist. Wie bereits in anderem Zusammenhang dargelegt (siehe S. 10) verursacht auch die intravenöse Injektion von Hämatin eine bemerkenswerte Anhebung des CRP-Spiegels im Blut (87).

RILEY et al. (184) konnten im Experiment an Kaninchen zeigen, daß ein bestehender hoher CRP-Spiegel unter dem Einfluß von Kortikoiden gesenkt bzw. daß die Bildung oder Freisetzung von CRP durch entsprechende Hormonpräparate unterdrückt werden können. Dies ist jedoch nicht unwidersprochen geblieben (siehe S. 33)

JENNINGS et al. (96) berichteten schließlich, daß mittels Terpentin erzeugte CxRP-Stimulation durch intraperitoneale Verabfolgung von Actinomycin D gehemmt werden kann.

Die experimentellen Erfahrungen lassen sich weitgehend auf die klinischen übertragen. Dies sei durch die medizinisch-historisch gewordenen Angaben von TILLET und FRANCIS (215) in Abbildung 1 (Abb. 1) belegt.

2. 2 Vorkommen, Bildungsstätte(n) und Isolierung des CRP

2. 2. 1 Vorkommen

Im menschlichen Organismus wurde CRP im Serum (siehe Tabelle 1, in 202), im Liquor (15, 113, 121, 198, in 202), in Pleuraexsudaten (in 202), im Aszites (7, 101, 103, in 202), in der Synovialflüssigkeit (46, 48, in 202), im Nasalsekret (45, in 202), in Oedemflüssigkeit (44, 45, 101, 103, in 202), im Eiter (44, 102, 164, in 202), im Urin (21) sowie in Geweben, z.B. bei zystischer Fibrose (68), in Karzinomgeweben (149, 197) und in der Haut (163, 233) gefunden. CRP läßt sich in der Haut u.a. durch Intrakutaninjektion von C-Polysaccharid nachweisen.

Das CRP der verschiedenen biologischen Flüssigkeiten erweist sich immunologisch als identisch.

CRP findet sich physiologischerweise im Serum des gesunden Erwachsenen (53, 55, 58, 152, 153, 155, 172, 195). Im höheren Lebensalter, d.h. ab jenseits des 50. Lebensjahres, kann CRP in 69% (68) bzw. in 84% (153, 155) der untersuchten Seren mit einfacher Immunpräzipitationstechnik unter Verwendung eines xenogenen anti-CRP-Serums nachgewiesen werden. Bei Kindern unter 18 Jahren beträgt der Prozentsatz positiver CRP-Sera 17- (192) bzw. 19% (153), bei Neugeborenen und Kleinkindern bis zu 24 Monaten 13% (104). In der Schwangerschaft wird CRP im Serum der Frauen im ersten Trimester in 13,2%, im zweiten Trimester in 15,1- bzw. 25,0%, im dritten Trimester in 19,4- bzw. 32,0%, post partum - und zwar über die ersten 8 Tage hinweg - in 80-, 88- bzw. 95% der untersuchten Seren mit Immunpräzipitationstechnik nachgewiesen (22, 190, 204, 216).

Tab.1 Klinischer Nachweis des CRP

D i a g n o s e	L i t e r a t u r
Gesunde (Erwachsene und Kinder)	48,53,55,58,68,110,153,155, 192,193,195,219
Gesunde im höheren Lebensalter	68,100,153,155
Neugeborene	4,34,36,92,93,94,104
Schwangerschaft	22,190,204,216
Nach oralen Contraceptiva	14,22,99,141,175,196,199,210
Nach operativen Eingriffen und Traumen	9,21,25,136,142,178,189
Nach Verbrennungen	27,31
Verschiedene Erkrankungen bei Erwachsenen	32,33,52,72,74,98,103,146, 151,166,173,205,230,233
Primär chronische Polyarthrit- tis (aktives Stadium)	10,38,46,75,140,141,159,179, 207,211
Pneumonien	1,8,127,128,129,215
Tuberkulose, Silikotuberkulose, Silikosen	51,114,179
Akutes rheumatisches Fieber	5,120,145,159,203,212
Carcinome und maligne System- erkrankungen	7,20,35,60,67,69,111,114,149, 158,188,197,232
Monoklonale Gammopathien	50,105,133
Lupus erythematodes	3,13,175,176,213
Myocardinfarkt	59,122,240

CONNELL et al. (22) haben unter 611 schwangeren Frauen insgesamt in nur 40% das CRP, und zwar mit Hilfe der Latex-Agglutinationstechnik nachweisen können. Sie fanden keine Steigerung des Prozentsatzes CRP-positiver Seren mit zunehmendem Bestehen der Schwangerschaft. Allerdings ist aus den Untersuchungsergebnissen abzuleiten, daß die Frauen in den verschiedenen Trimestern jeweils unterschiedliche Gruppen darstellten, m.a.W., daß keine kontinuierlichen Verlaufsbeobachtungen an ein und denselben Probanden gemacht worden sind.

Quantitative CRP-Bestimmungen mit Hilfe der Radio-Elektro-Immunpräzipitations-Technik nach KINDMARK und THORELL (110) ergaben folgende Befunde (Tab. 2): Bei gesunden Erwachsenen beträgt nach diesen Untersuchungsergebnissen der Mittelwert für die CRP-Konzentration 0,47 mg/l (47 µg/100 ml). Unter Berücksichtigung der gefundenen Einzelhöchstwerte kann eine obere Normgrenze von 6,1 mg/l (610 µg/100 ml) angenommen werden. Diese Befunde stehen in gutem Einklang mit Ergebnissen anderer Autoren (12, 153, 192), die allerdings ihre quantitativen Bestimmungen mit einfachen Immundiffusionstechniken, d.h. ohne zusätzliche Radio-Immunpräzipitation, gewonnen haben.

Kinder zeigten nach KINDMARK et al. (110) etwa ein Drittel der Erwachsenen-CRP-Konzentration, d.h. 0,16 mg/l (16 µg/100 ml) mit einer oberen Normgrenze von 1,8 mg/l (180 µg/100 ml), Neugeborene 0,32 mg/l (32 µg/100 ml) mit Höchstwerten von 3,2 mg/l (320 µg/100 ml), also einem Zehnfachen des arithmetischen Mittels. Mütter nach einer Geburt hatten CRP-Spiegel von durchschnittlich 4,4 mg/l (440 µg/100 ml), in Einzelfällen bis zu 46,8 mg/l (4 680 µg/100 ml)! Die Frage, ob CRP diaplazentar vom mütterlichen auf das kindliche Blut übertragen werden kann, wird in der Litera-

Tab. 2 Ergebnisse einer quantitativen CRP-Bestimmung bei gesunden Kindern und Erwachsenen mit Hilfe der Radio-Elektro-Immunpräzipitations-Technik.

Gruppe der untersuchten Probanden	Zahl	Mittelwerte		obere Grenzwerte	
	n	mg/l	µg/100 ml	mg/l	µg/100 ml
Neugeborene Kinder, 1 Tag alt Kinder, 1 Woche alt Kinder, 1 Monat alt Schulkinder	23	0,10	10	0,6	60
	31	0,32	32	3,2	320
	21	0,16	16	1,6	160
	18	0,15	15	1,6	160
	30	0,17	17	2,2	220
Erwachsene	♂	59	0,55	55	520
	♀	86	0,42	42	460
	♂ + ♀	145	0,47	42	460
Frauen nach einer Geburt	23	4,4	440	46,8	4680

tur auf Grund vergleichender Analysen von Nabelschnur- und mütterlichem Venenblut von verschiedenen Untersuchungsgruppen unterschiedlich beurteilt. Die einen halten eine präpartale Passage des CRP für nicht (22), die anderen für sehr wohl möglich (107, 174).

Unter tierexperimentellen Bedingungen konnte CRP in verschiedenen Spezies, so beim Kaninchen (CxRP), beim Schaf, Affen, Esel, bei Mäusen, Ratten (als α -Globulin), beim Meerschweinchen, beim Hund sowie beim Pferd induziert und nachgewiesen werden (siehe Tab. 2). Interessant hierbei ist die Beobachtungstatsache, daß unter den CRP-Typen der verschiedenen Spezies und des Menschen immunologische Kreuzreaktionen objektivierbar wurden (64, 182, 183). So reagiert z.B. ein Antiserum gegen menschliches CRP vom Kaninchen (anti-CRP_H-Serum) selbstverständlich mit dem CRP des Menschen, aber auch mit dem CRP des Esels, jedoch nur schwach mit dem CxRP des Kaninchens. Ein anti-CRP_H-Serum vom Schaf reagiert mit dem CRP des Menschen, ebenso mit dem CRP des Esels, aber wiederum nur schwach mit dem CxRP des Kaninchens. Das anti-CxRP_K vom Schaf reagiert mit dem CxRP des Kaninchens, ferner mit dem CRP des Menschen und mit dem CRP des Esels. Desgleichen bestehen antigene Verwandtschaftsreaktionen zwischen bestimmten Determinanten des CRP des Menschen, des Affen und des Kaninchens. RILEY et al. (182) fanden bei ihren Studien am CRP des Hundes keine abweichenden Eigenschaften von denen anderer Spezies. Die CRP-Konzentrationen im peripheren Blut lagen bei nicht künstlich stimulierten Tieren etwa im gleichen Bereich wie beim Menschen. Jedoch konnte überraschenderweise weder mit C-Polysaccharid noch mit Teicholsäure eine Präzipitatbildung beobachtet werden. Dennoch lassen die gefundenen Übereinstimmungen im Verhalten des CRP beim Hund wie beim Menschen es vorteilhaft

Tab.3 Experimentell induziertes CRP

T i e r s p e z i e s	L i t e r a t u r
Kaninchen	5,6,26,39,64,71,115,116, 117,118,130,144,151,182, 184,227,228
Ratten	28,19
Affen	54,132,151,182
Maus	167,169
Pferd	168
Hund	182,183

erscheinen, den Hund für experimentelle Forschungsarbeit über das CRP anderen Tierspezies vorzuziehen.

2. 2. 2 Bildungsstätte(n)

Über den Bildungsort des CRP sind in der älteren Literatur (37, 44, in 101, 115, 116, 144, in 200, in 202, in 225, 231) die Vermutungen, die sich auf vorwiegend experimentelle Untersuchungen stützten, dahin gegangen, daß das CRP ubiquitär im Retikulo-endothelialen System (RES) synthetisiert würde. Das bekannteste Beispiel sind die Thorotrast-Blockade-Versuche des RES von MONTELLA und WOOD (144), bei welchen nach Applikation eines CRP-Induktors im Gefolge der Thorotrast-Injektion die Bildung von CRP weitgehend unterbunden werden konnte, in einigen Fällen sogar völlig unterblieb. Andere Untersucher (100, 102, 115, 164, 238) nahmen an, daß das CRP Bestandteil aller Gewebe, einschließlich leukozytärer Elemente, sei, und daß es im Falle einer Gewebeläsion sofort lokal freigesetzt und außerdem in die Blutbahn und in biologische Flüssigkeiten eliminiert werden könne. Dafür sprechen unter anderem Befunde von KUSHNER und KAPLAN (115), die mit Immunfluoreszenz-Technik bei Kaninchen CxRP - nach entsprechender Vorbehandlung - in destruiertem Muskelgewebe nachgewiesen haben. Spätere Versuchsergebnisse von KUSHNER et al. (118), die den zeitlichen Abstand zwischen dem Auftreten des CxRP im Serum und in der Synovia des Kaninchens bei experimentell induzierter Arthritis beobachtet haben, legten die Vermutung nahe, daß das Auftreten von CRP an einem Entzündungsherd durch humorale Faktoren, speziell durch eine seromukoid Substanz, die im Akute-Phase-Serum der Kaninchen gefunden wurde, gesteuert würde. Die Autoren hielten es aber auch für

möglich, daß CRP, wahrscheinlich über die Leber (!), sich selbst zu induzieren vermag und auf dem Blutweg in lädierten Geweben zur Wirkung kommen könne.

Studien von HURLIMANN et al. 1966 (91) mit C¹⁴-markierten Aminosäuren haben ergeben, daß sowohl die fetale als auch die Erwachsenenleber z.B. Lysin sowie Isoleucin in CRP einzubauen, d.h. zur Synthese dieses Proteins zu verwerten vermögen. Dieselben Aminosäuren konnten von anderen Geweben, wie Milz, Lymphknoten, Leukozyten, Entzündungsgeweben oder degenerierendem Muskelgewebe zum Einbau in CRP nicht genutzt werden, weil die Gewebe zu dieser Synthese offenbar nicht fähig waren. Daß die Produktion des CRP zur Hauptsache in der Leber erfolgt, kann außerdem durch Befunde an hepatektomierten Kaninchen (186), ferner durch vergleichende Isolierungsversuche aus CRP-haltigen Seren und Leberhomogenaten (85), aber auch durch immunfluoreszenzoptische Befunde am Zellgut menschlicher Leberpunktionszylinder¹⁰⁾ (siehe auch Abb. 9) wahrscheinlich gemacht werden.

Schließlich können als zusätzlicher indirekter Beweis hierfür klinische Beobachtungen von UETE et al. (217) mit herangezogen werden: Leberkranke mit Begleit- oder Superinfektionen vermochten, in Abhängigkeit von der Schwere des Leberparenchymschadens, CRP sehr wohl oder nicht zu bilden.

Experimentelle Untersuchungen von HOKAMA et al. (81) lassen es als wahrscheinlich erscheinen, daß die CRP-Synthese bei Kaninchen und Mensch innerhalb der Leberzelle in den Peroxisomen erfolgt.

¹⁰⁾ GÖTZ, H.: Unveröffentlichte Screening-Untersuchungen an Leberpunktatzylindern, Lymphknotenpunktaten, Knochenmarkspunktaten und vereinzelt Milzzellausstrichen (Unfallmilzen) unter Verwendung fluoreszenzmarkierter anti-CRP- γ -Globuline vom Kaninchen: In 96% aller untersuchten Präparate Zytoplasmafluoreszenz der Leberparenchymzellen, in 2,5% Membranfluoreszenz von lymphoiden Zellen.

Die Tatsache, daß die Leber nach heutigem Erkenntnisstand wohl als die zentrale Bildungsstätte für das CRP anzusehen ist, läßt die Frage nach Gemeinsamkeiten des CRP mit Immunglobulinen, trotz einiger bereits angeführter funktioneller Beziehungen, eher verneinend beantworten. Die vereinzelt in lymphatischen Organen beobachteten positiven Membranfluoreszenz-Phänomene nach Applikation eines fluoreszenzmarkierten anti-CRP-Serums müssen im Sinne eines sekundären Adsorptionsgeschehens des CRP an lymphoide Zellen interpretiert werden. Für die Unabhängigkeit der CRP-Produktion von der Bildung molekularer Antikörper wie auch sensibilisierter Lymphozyten sprechen auch die Erfahrungstatsachen, daß z.B. hypo- und agammaglobulinämische Patienten offenbar durchaus in der Lage sind, CRP zu synthetisieren und ferner, daß CRP durch Glukokortikoide - entgegen früherer experimenteller Ergebnisse (184) - an seiner Bildung nicht gehindert wird (22). Inwieweit die relativ hohen CRP-Konzentrationen im peripheren Blut des Neugeborenen als Ausdruck einer bereits vonstatten gegangenen Eigenleistung der kindlichen Leber oder als passive "Mitgift" des mütterlichen Organismus aufzufassen sind, kann derzeit nicht eindeutig entschieden werden.

Trotz dieser relativ klaren Unterschiede in den Bildungsstätten des CRP und der Immunglobuline kann die Bedeutung funktioneller Gemeinsamkeiten der beiden antigenbindenden Systeme nicht unbeachtet bleiben.

2. 2. 3 Isolierung des CRP

Isolierungsprozeduren mit Reindarstellung des CRP aus Serum und anderen biologischen Flüssigkeiten wurden mit Erfolg von einer Reihe von Untersuchern unternommen (6, 8, 26, 30, 37, 42, 61, 62, 63, 64, 73, 74, 76, 85, 86, 90,

109, 117, 131, 139, 154, 171, 182, 185, 187, 201, 229, 231). Die ersten Isolierungsversuche gehen auf WOOD et al. (229, 231) zurück. Sie nutzten den Präzipitationseffekt CRP-C-Polysaccharid, um CRP aus biologischen Flüssigkeiten gezielt und quantitativ optimal herauszulösen. Andere Autoren (74, 76, 117) begannen mit Ammoniumsulfat-Fällungen (unterschiedlichen Sättigungsgrades), um dann zwei aufeinanderfolgende DEAE-Cellulose-Chromatographieschritte, einen ohne, den anderen mit Elektrolyt- sowie **pH**-Gradienten, anschließen zu lassen. In wiederum anderen Beispielen wurde nach DEAE-Cellulose-Chromatographie (ohne pH-Gradient) die präparative Trennung in einem Polyacrylamid-Gradientengel vorgenommen, oder die Sephadex-Chromatographie angeschlossen. Wegen der Vergesellschaftung des CRP mit Lipoiden bedarf es zu seiner Reindarstellung nach Ansicht einiger Autoren (2, 229) der Entfernung der Lipide mittels Alkohol/Äthergemischen oder Chloroform. Auch die primär elektrophoretische Trennung im Sinne der kontinuierlichen Zonenelektrophorese (73, 187) wurde zur Vorreinigung des CRP mit Erfolg genutzt. Dieses Verfahren - damals im freien Puffersystem oder auf Papier! - wird heute allerdings nur noch mit semipräparativen Elektrophoresetechniken in festen Medien (Agarosegele, Polyacrylamidgele, Stärkegele etc.) durchgeführt.

KUSHNER und SOMERVILLE (117) hatten vor ihre chromatographischen Reinigungsschritte die Dichtegradientenzentrifugation gestellt, DAVIS et al. (30) nutzten eine Immunadsorptionstechnik unter Verwendung diazotierter m-Aminobenzylloxymethylzellulose, RILEY et al. (182) das Prinzip der Affinitätschromatographie unter Verwendung phosphorylierter Cellulose, HOKAMA et al. (85) sahen gute Ausbeuten an gereinigtem CRP, wenn sie vorab, d.h. vor den Chromatographieschritten, CRP an Lecithin-A

banden und so aus biologischen Flüssigkeiten isolierten. HORNUNG und FRITSCHI (90) gewannen CRP aus CRP-C-Polysaccharid-Komplexen, die in EDTA bei pH 8,6 resuspendiert wurden. Kopräzipitierende Proteine sowie das C-Polysaccharid wurden durch Agar-gelelektrophorese semipräparativ entfernt. GANROT und KINDMARK (42) nutzten schließlich die Fähigkeit des CRP, mit Agargel Bindung einzugehen. Sie arbeiteten eine Zweistufentechnik aus, deren erster Schritt die Bindung des CRP an BaSO_4 und deren zweiter Schritt die Bindung des SO_4^{2-} -freien CRP an CaCl_2 -haltiges, Tris-HCl-gepuffertes Agargel mit nachfolgendem Herauswaschen des gebundenen CRP mittels EDTA-Puffer war. Sie erhielten eine agarelektrophoretisch saubere CRP-Fraktion vom β/γ -Typ.

Die dargelegten Prinzipien von Isolierungstechniken des CRP sind hiermit keineswegs erschöpft, sie repräsentieren jedoch die meistangewandten Reinigungsschritte zur Darstellung dieses Akute-Phase-Proteins.

Die gereinigten CRP-Fraktionen finden Verwendung als Antigenstandard für semiquantitative CRP-Bestimmungen, ferner zur Gewinnung xenologer anti-CRP-Seren, schließlich für experimentelle, immunbiologische Untersuchungsreihen, z.B. zur Frage zellulärer Wechselwirkungen zwischen CRP und Immunzellen oder CRP und komplementabhängiger Reaktionen an Membranen physiologischer und pathogener korpuskulärer Elemente.

2. 3 Nachweistechniken

2. 3. 1 Allgemeines

Zum Nachweis des CRP in biologischen Flüssigkeiten können grundsätzlich die - bereits in der älteren Literatur dargelegten - Flokkungs- (1) bzw. Präzipitationsreaktionen mit C-Polysaccharid aus Pneumokokken (5, 6, 8, 71, 72, 127, 129, 131, 132, 139, 173, 215), ferner die Kapselschwellungsreaktion nach LÖFSTRÖM (128), insbesondere aber die Präzipitationsreaktion mit monospezifischen anti-CRP-Serum, etwa vom Kaninchen, die sich sowohl zur qualitativen als auch zur quantitativen CRP-Bestimmung in hohem Maße bewährt hat, herangezogen werden. Diese Präzipitationsreaktion wird sowohl in Kapillaren (138, 154, 162, 166, 224, 230) als auch in Agar- oder Agarosemedien (32, 40, 41, 54, 55, 113, 125, 134, 135, 147, 152, 154, 156, 159, 161, 166, 192, 209, 224, 237) vorgenommen. Außerdem werden kombinierte Verfahren mittels Elektrophorese und Immunpräzipitation angewandt, die geeignet sind, einerseits eine exakte Zuordnung des C-reaktiven Proteins zu den Proteinen der untersuchten biologischen Flüssigkeit vorzunehmen, andererseits einen semiquantitativen oder sogar exakt quantitativen Nachweis zu führen (65, 66, 106, 107, 123, 124, 147, 156, 194). Durch die Kopräzipitation eines vorgebildeten CRP-anti-CRP-Immunpräzipitats mit einem radioaktiv markierten anti-CRP- γ -Globulin kann die Methode um das 100-fache sensibler gemacht werden (110). Eine andere Autorengruppe hat in jüngeren Jahren eine Präzipitations-Inhibitionstechnik zum empfindlichen Nachweis des CRP erprobt (180, 191, 205), deren Vorzug gegenüber den bereits genannten Methoden wegen der noch ausstehenden vergleichenden Untersuchungsergebnisse durch

andere Untersucher noch nicht gesichert zu sein scheint.

Darüber hinaus gelingt es, durch Adsorption von C-Polysaccharid an Hämerythrozyten, nach Zugabe der CRP-haltigen Flüssigkeit, etwa eines Pleuraexsudats, die eintretende Agglutinationsreaktion durch "Titerbestimmungen" (78, 167, 169) das CRP semiquantitativ zu bestimmen. Voraussetzung hierfür sind das Erstellen einer CRP-Verdünnungsreihe sowie die Auffindung einer optimalen Konzentration der Testerythrozyten.

Anstelle von Erythrozyten können "inerte" Kunststoffpartikel (= Latexpartikel) verwendet werden, die den Vorteil haben, daß sie ein gleichmäßiges und gleichartiges Testgut darstellen und zudem für den praktischen Gebrauch jederzeit zur Hand sind (53, 98, 142, 207, 208).

Desgleichen kann durch die Komplementbindungsreaktion ein quantitativer Nachweis des CRP geführt werden (97, 137, 222).

Für die gewebliche bzw. zellgebundene Diagnostik des CRP wird der immunfluoreszenzoptische Nachweis unter Verwendung eines mit Fluoreszenzfarbstoff markierten anti-CRP- γ -Globulins geübt (115, siehe auch S. 32, Fußnote 10) !)

Für praktisch klinische Belange haben sich vor allem die einfache, radiale Immundiffusionstechnik nach MANCINI et al. (134, 135), ferner die Kapillar-Immunpräzipitation (1, 5, 6, 162) sowie die Latexpartikel-Agglutinationsreaktion nach SINGER und PLOTZ (207, 208) bewährt. Diese

und einige ausgewählte andere Techniken zum Nachweis des CRP sollen im folgenden kurz dargestellt und besprochen werden.

2. 3. 2 Spezielle Techniken

2. 3. 2. 1 Präzipitationstechniken

Kapillar-Präzipitations-Test nach OUDIN (162)

Prinzip

In einer Glaskapillare gelangen Antigen und spezifischer Antikörper (monospezifisches anti-CRP-Serum) zur Reaktion unter Ausbildung eines Immunpräzipitates, dessen Höhe ein Maß für die Konzentration des CRP ist (Abb. 3).

Für die Praxis stehen handelsübliche Testpackungen zur Verfügung¹¹⁾.

Zweidimensionale Immundoppeldiffusion nach OUCHTERLONY (161)

Prinzip

Antigen und Antikörper diffundieren in einem Agar- oder Agarosegel von zwei verschiedenen Positionen aus konzentrisch aufeinander zu. An den Berührungsstellen zwischen Antigen- und Antikörpermolekülen kommt es zur Ausbildung eines unlöslichen Immunpräzipitats, das im Gel festgehalten wird. Durch Verdünnung des Antigens (biologische Flüssigkeit) kann eine semiquantitative Bestimmung des Präzipitats ermöglicht werden: Rosettenanordnung (41, in 54). Für die Praxis stehen heute

¹¹⁾ z.B. Fa. Immuno, 6900 Heidelberg

handelsübliche Agarpulver, Antiseren und positive und negative Kontrollseren zur Verfügung. Zur Aufbereitung eines geeigneten Gels siehe bei (54). Nach Einfüllen des antigenhaltigen Serums und Antikörperserums in ausgestanzte Auftragestellen eines Agarplättchens erfolgen Diffusion und Präzipitation in einer feuchten Kammer (z.B. Petrischale) bei Zimmertemperatur. Das Ergebnis ist im allgemeinen nach zwölf bis achtzehn Stunden ablesbar (Abb. 4a, b).

Beurteilung der Technik

Unter Einbeziehung einer Verdünnungsreihe der biologischen Flüssigkeit erweist sich die Methode zum qualitativen und semiquantitativen Nachweis des CRP als relativ sensibel. Sie erfaßt CRP-Konzentrationen von 0,5 mg/100 ml bis 30,0 mg/100 ml, unter Berücksichtigung einer anti-CRP-Serumverdünnung sogar bis zu 10 µg/100 ml. Sie ist in Fällen mit sehr niedriger CRP-Konzentration der noch zu besprechenden Latexagglutinationstechnik an Empfindlichkeit und Spezifität überlegen. Im Vergleich zum Kapillar-Präzipitationstest ergibt sich eine bessere Korrelation, wobei der Immundiffusion im Agargel insoweit dennoch der Vorzug zu geben ist, als die Beurteilung des spezifischen Präzipitats gegenüber unspezifischen Trübungen eindeutiger erfolgt. Exakte Vergleichsuntersuchungen von NILSSON (152) zwischen beiden Techniken ergaben mit dem Kapillartest weit weniger positive Ergebnisse als mit der Immundiffusionstechnik.

Einfache radiale Immundiffusion im Agargel nach MANCINI et al. (134, 135)

Prinzip

Die gelösten Moleküle eines definierten Antigens (Plasma-proteinfraction, Fraktion eines Referenzserums) diffun-

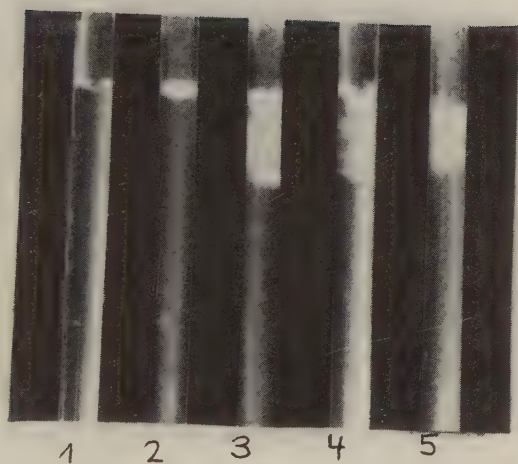


Abb. 3 Präzipitationsreaktion (anti-CRP-Serum + Probandenserum) nach OUDIN in Kapillaren.

Röhrchen	1	= CRP-negative Kontrolle
Röhrchen	2	= CRP-positive Kontrolle
Röhrchen	3 - 5	= CRP-positive Patientenserum mit unterschiedlich hohen CRP-Konzentrationen

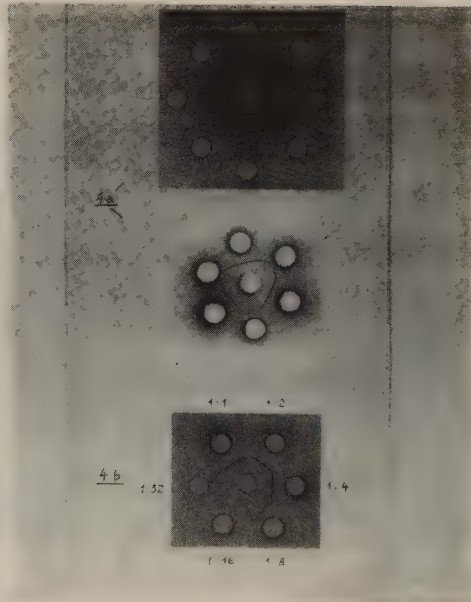


Abb. 4 Befunde nach zweidimensionaler Immun-Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY.

4a: Beispiele mit verschiedenen Patientenserum - jeweils in den äußeren Aufnahmereservoirs - ohne exakte Kenntnis darüber, ob sie CRP enthalten oder nicht. Zentral: Anti-CRP-Serum.

4b: Sogenannte Rosetten-Technik zum semiquantitativen Nachweis des CRP in biologischen Flüssigkeiten, hier Serum. Peripher: Serumverdünnungsstufen; zentral: Anti-CRP-Serum.

dieren von einer runden Agaraussparung aus radial (= zweidimensional) in ein homogenes, gleichmäßig dickes, mit anti-CRP-Serum vermisches Agargel. Infolge des Kontaktes von Antigen und entsprechendem Antikörper kommt es zur Ausbildung einer kreisförmigen (zylindrischen), unlöslichen Präzipitationszone (Abb. 5), deren Kreisfläche, einschließlich der Auftragestelle der aufgetragenen Antigenmenge direkt proportional ist.

Für die praktische Ausführung sind handelsübliche, antikörpervermischte Agarplatten¹²⁾ mit entsprechendem Referenzserum sowie mit positiven und negativen Kontrollen zu empfehlen. Anhand einer Referenzkurve bzw. -geraden, die sich aus den Quadraten der Präzipitaturdurchmesser definierter Antigenverdünnungen (des Referenzserums) ergibt, wird die effektive Konzentration des Patientenserums ermittelt.

Beurteilung der Methode

Es handelt sich um ein im klinischen Routinelaboratorium bereits verbreitetes Verfahren, das lediglich mit der einen Fehlermöglichkeit behaftet ist, daß die Äquivalenzzone zwischen Antigen und Antikörper nicht immer gegeben ist. Das führt insbesondere zu Fehlerergebnissen bei sehr niedrigen, ebenso wie bei sehr hohen CRP-Konzentrationen. Im einen Falle müßte durch doppelte oder mehrfache Auftragung des Patientenserums, im anderen Falle durch Verdünnungsreihen der Äquivalenzbereich aufgesucht werden, was selbstverständlich den praktischen Wert der Methode schmälert: Bei primär unbekannter CRP-Konzentration müßte jedes der zu untersuchenden Seren in eben beschriebener Weise analysiert werden.

¹²⁾ z.B. Fa. Behringwerke AG, 3550 Marburg/Lahn (CRP-Partigen^R)
Fa. Hyland-Travenol, 8000 München ("Immunoplates" CRP^R)

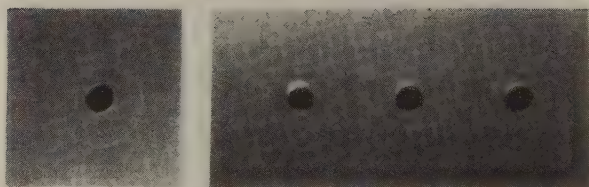


Abb. 5 Ergebnisse nach einfacher, radialer Immundiffusion nach MANCINI et al. Links: Patientenserum mit unbekannter, aber relativ hoher CRP-Konzentration. Rechts: Verdünnungsstufen eines CRP-haltigen Serums mit bekannter Konzentration.

Die immunologische Bestimmung des CRP erweist sich jedoch vor allem für Verlaufsuntersuchungen als wertvoller Indikator für das quantitative Verhalten des CRP und somit für die Diagnose akuter Entzündungs- und Nekroseabläufe.

Elektro-Immundiffusion nach LAURELL (123) sowie KINDMARK (106)

Prinzip

Ein anodisch wanderndes Protein wird in einem antiserumhaltigen Agarosegel im Bereich der Kathode aufgetragen. Durch Elektrophorese wird dieses Antigen unter gleichzeitiger Ausbildung eines Immunpräzipitats in das Gel anodenwärts hineingezogen. Dadurch kommt es zur Ausbildung eines Präzipitats, das sich als eine schmale, spitz zulaufende Kurve darstellt (Abb. 6). Die lotrecht von der Präzipitationsspitze auf die obere Kante des Startloches gezogene Linie entspricht in ihrer Länge einem Maß für die Konzentration des Antigens. Unter Berücksichtigung dessen, daß das CRP ein Protein mit der Wanderungsgeschwindigkeit von γ -Globulinen darstellt, muß bei der Wahl des Agarosegels darauf geachtet werden, daß der endosmotische Effekt unterbunden wird. Es besteht allerdings auch die Möglichkeit, den endosmotischen Effekt bei Verwendung eines Agargels zu nutzen und die im kathodischen Bereich entstehenden Präzipitate zu bewerten.

Für die Praxis gelten wiederum die hinlänglich bekannten Arbeitsvorschriften (106, 123, 124) unter Verwendung der bereits erwähnten handelsüblichen Antiseren, einem Referenzserum mit bekannter CRP-Konzentration und entsprechender Kontrollseren.

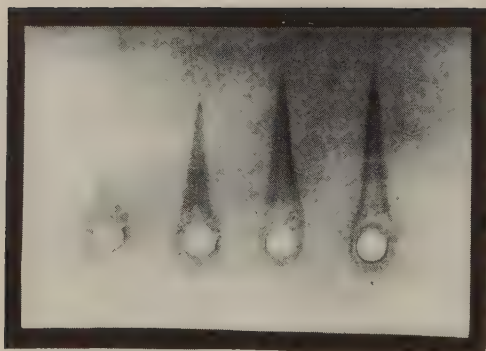


Abb. 6 Elektroimmundiffusions-Befunde
von Patientenseren mit unter-
schiedlichem CRP-Gehalt.

Beurteilung der Methode

Im Vergleich zur einfachen radialen Immundiffusion besitzt die Technik der Elektroimmundiffusion gewisse Vorteile: Sie gestattet eine wesentlich frühzeitigere Ablesung des Ergebnisses. Außerdem gelingt es, durch Variation des antikörperhaltigen Agarosegels - mit Bezug auf die Antikörperkonzentration - die Äquivalenzonen ohne Änderung der Antigenkonzentration, aufzusuchen. Der Nachteil liegt darin, daß die Antikörper-Agarose-Lösungen selbst hergestellt werden müssen, weiterhin darin, daß die sogenannte Endpunktpräzipitation nicht immer exakt erfaßt werden kann, und schließlich darin, daß für die Untersuchungen eine komplette Elektrophorese-Einrichtung mit Kühlung erforderlich wird.

Radio-Elektro-Immunpräzipitation

KINDMARK und THORELL (110) haben die Elektro-Immunpräzipitations-Technik (= Elektro-Immundiffusion) empfindlicher und damit zum Nachweis sehr niedrige CRP-Konzentrationen anwendbar gemacht: In einem ersten Schritt erfolgt die Elektrophorese der CRP-haltigen Probe in ein Agarosegel, das mit sehr geringer Menge monospezifischen anti-CRP-Serums vermischt ist. Das gebildete Immunpräzipitat ist nicht sichtbar. In einem zweiten Schritt wird das feuchte Agarosegel mit J^{125} -markiertem γ -Globulin des anti-CRP-Serums (z.B. vom Kaninchen) überschichtet. Die markierten Antikörper werden in das Präzipitat integriert. Nach erfolgter optimaler Immunaggregation wird die Agaroseplatte autoradiographisch ausgewertet. Die nunmehr sichtbar gemachten "Raketen" können wie die nativen Präzipitate in Agarosegelen, unter Bezugnahme auf eine Referenzkurve, exakt beurteilt werden. Mit dieser Technik

konnten die Autoren CRP-Konzentrationen von 0,01 mg/l (1 µg/100 ml) erfassen.

Immunelektrophorese nach GRABAR et al. (65, 66) sowie SCHEIDEGGER (in 54, 194)

Prinzip

Es handelt sich um die Kombination von Elektrophorese eines Proteingemisches oder eines Einzelantigens in einem gepufferten Agargel mit nachfolgender Immundiffusion der getrennten Komponenten gegen ein parallel zur Trennrichtung aufgetragenes, spezifisches Immuneserum im Sinne der zweidimensionalen Doppeldiffusion. Bei Kontakt von Antigen und spezifischem Antikörper kommt es zur Ausbildung einer Präzipitationslinie.

Für die Praxis stehen wiederum Agar-Pulver, Pufferlösungen, Antiseren und positive sowie negative Kontrollseren zur Verfügung. Zur Technik siehe bei (54, 65). Wie bereits erwähnt, stellt sich das CRP im γ -Globulin-Bereich in unterschiedlicher Position dar (Abb. 7a, b, c). Im Vergleich zur zweidimensionalen Immundoppeldiffusion sind Antigen- und Antikörperkonzentrationen neu aufeinander einzustellen.

Beurteilung

Die Technik eignet sich vor allem zur Identifizierung des CRP als ein im γ -Globulinbereich wanderndes Akute-Phase-Protein und somit zur Abgrenzung gegenüber den Akute-Phase-Glykoproteinen des α_2 -Bereichs. Als Screening-Methode dürfte sie jedoch untergeordnete Bedeutung haben. Empfindlichkeit und Spezifität entsprechen weitgehend denjenigen der zweidimensionalen Immundiffusionstechnik.

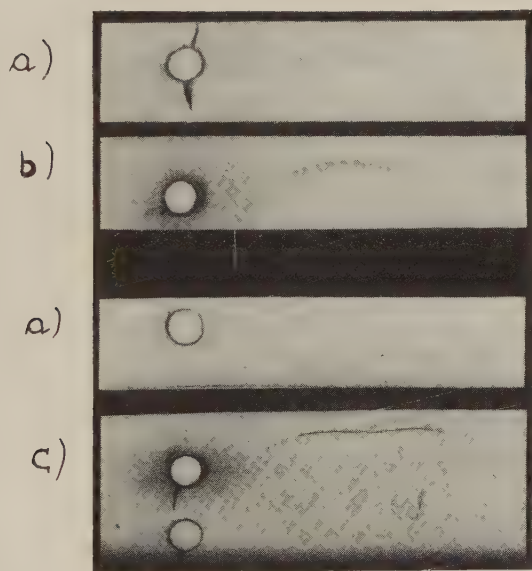


Abb. 7 Immunelektrophoretisch erzielbare
CRP-Präzipitationslinien mit un-
terschiedlichen Positionen und un-
terschiedlichen Formen des Immun-
präzipitats.

In Ergänzung zur einfachen Immunelektrophorese kann die zweidimensionale oder Zweiphasenimmunelektrophorese nach LAURELL (123, 124) zur elektrophoretischen und semiquantitativen Charakterisierung mitherangezogen werden. Sie ist derzeit aber im wesentlichen auf Forschungsfragen und nicht so sehr für klinisch-differentialdiagnostische Belange ausgerichtet.

Bei allen Präzipitationstechniken, in welchen CRP-anti-CRP-Immunpräzipitate zu erwarten sind, ist das Reaktionsprodukt, außer von den bereits dargelegten Besonderheiten des Antigens (Reinheitsgrad, Konzentration) in hohem Maße auch von der Qualität, d.h. Spezifität und Konzentration des Antiserums bzw. der eingesetzten gereinigten Ig-Klasse mit anti-CRP-Eigenschaften abhängig, worauf NAKAMURA et al. (148) besonders hingewiesen haben.

2. 3. 2. 2 Agglutinationstechniken

Unter den verschiedenen Agglutinationstechniken, in einem Fall unter Verwendung von Hammelerythrozyten, im anderen unter Einsatz von Latexpartikeln, hat sich für die Praxis eigentlich nur letztere durchzusetzen vermocht. Prinzip und Hinweise auf Applikabilität dieser Methode sind nachfolgend angeführt.

Latex-Agglutinationstechnik nach SINGER und PLOTZ (207, 208) Prinzip

Ein an Latexpartikel gebundener spezifischer CRP-Antikörper¹³⁾ reagiert mit dem z.B. im Patientenserum vorhandenen Antigen, dem CRP, unter Bildung eines makrosko-

¹³⁾ Spezifische Immunglobulin-Klasse eines mit CRP sensibilisierten Tieres (Kaninchen, Pferd, Ziege)

pisch sichtbaren Agglutinats.

Für die Praxis stehen handelsübliche Latexpräparate mit je einem positiven sowie einem negativen Kontrollserum zur Verfügung¹⁴⁾.

Nach Mischen definierter Mengen der biologischen Flüssigkeit mit vorgegebenen Verdünnungen der Latex- γ -Globulin-Suspension kann nach wenigen Minuten der Inkubation bei Zimmertemperatur das Ergebnis abgelesen werden. Eine positive Reaktion stellt sich als weißliches Agglutinat, die negative als homogene, milchige Trübung dar. Die Befunde sind am besten gegen schwarzen Untergrund abzulesen (Abb. 8).

Beurteilung der Methode

Der Test eignet sich zum qualitativen und bei Ansatz einer Verdünnungsreihe des Patientenserums, auch zum semiquantitativen Nachweis des CRP. Er stellt eine für das frequentierte Routinelaboratorium geeignete Schnellmethode dar. Er ist aber damit belastet, daß niedrige Konzentrationen von CRP nicht erfaßt werden, und daß außerdem unerwünschte falsch-positive Reaktionen auftreten können, letztere vor allem in Krankheitsfällen, in welchen neben dem CRP gleichzeitig antinukleäre Faktoren, WaR-Antikörper, der Rheumafaktor, Kälteagglutinine oder pathologische Makroglobuline anderer Genese, angetroffen werden.

Vergleichende Untersuchungen ein und desselben Probandengutes, hier gesunder Blutspender, mit der Latexpartikel-Agglutinations- und mit der zweidimensionalen Immundiffusions-Technik im Agargel unter Verwendung von Antikörperverdünnungsstufen (53) haben wesentlich häufiger positive Resultate mit letztgenannter Methode zutage gefördert (96% aller untersuchten Seren!) als mit der Latexpartikel-Agglutination (48% der Blutspenderseren!).

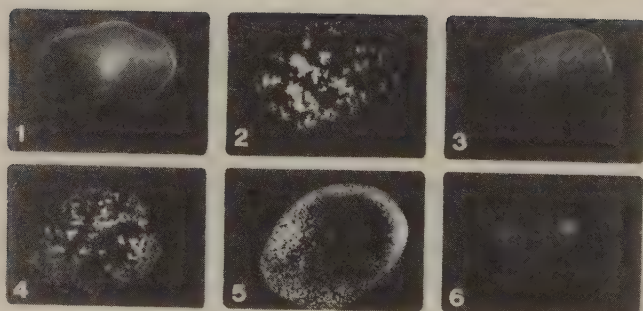


Abb. 8 Agglutinationsreaktion mit anti-CRP-beladenen Latexpartikeln.

2,4,5: CRP-positives Serum; **1,3,6:** CRP-negative Kontrolle.

Es muß allerdings erwähnt werden, daß die antikörperbeladenen Latexpartikel handelsüblichen Chargen entstammten, die erfahrungsgemäß auf CRP-Spiegel pathologischer Seren mit einer CRP-Mindestkonzentration von 1,0mg/100ml eingestellt sind. Obwohl GMEINER (53) auch Latexpartikel-Verdünnungsstufen aufgestellt hat, so konnten damit naturgemäß nicht gleichzeitig Antikörper-Beladungsunterschiede der Latexpartikel herbeigeführt werden, was hier wahrscheinlich notwendig geworden wäre. Bei sehr niedrigen CRP-Konzentrationen, wie sie in Normalseren zu erwarten sind, ist darüber hinaus das Agglutinationsphänomen an sich nicht ausreichend deutlich zu objektivieren, es sei denn, man prüft sorgfältig unter dem Mikroskop, so daß hier wesentlich mehr falsch-negative Feststellungen in die Befunderhebung einfließen als bei der Immunpräzipitation, bei welcher im übrigen durch eine Reihe zusätzlicher Maßnahmen, etwa durch Fällungs-, Ferment- oder Farbstoffreaktionen, eine bessere Sichtbarmachung sehr schwacher Präzipitate erreicht werden kann.

KATBEH (98) fand auf Grund seiner vergleichenden Untersuchungen an CRP-positiven Seren mit CRP-Konzentrationen von 0,35mg/100ml bis 16,6mg/100ml, die mit der Latex- und mit der einfachen, radialen Immundiffusions-Methode erfolgt sind, eine relativ größere Meßempfindlichkeit der Latexpartikel-Agglutination; er räumt aber ein, daß diese Technik wegen des sogenannten Prozonenphänomens und der damit verbundenen Gefahr falsch-negativer Werte bei unverdünnt angesetzten CRP-Proben in jedem Falle durch die immunologische quantitative Bestimmung in anti-CRP-vermischten Agar- oder Agarosegelen ergänzt werden müsse.

3. 2. 3 Immunfluoreszenzoptische Techniken nach COONS (23, 24)

Prinzip

Bei der direkten Immunfluoreszenztechnik wird ein in Methanol oder Aceton fixierter Gefrierschnitt mit verschiedenen

Verdünnungsstufen eines mit Fluoreszenzfarbstoff markierten anti-CRP-Immunglobulins bei 37°C inkubiert und nach intensivem Wässern mit gepufferter Kochsalzlösung, pH 7,2, zur Entfernung nichtgebundenen Antikörpers unter dem UV-Mikroskop beurteilt (Abb. 9,10).

Bei der indirekten Immunfluoreszenz-Technik wird ein fixierter Gefrierschnitt (wie oben) zunächst mit verschiedenen Verdünnungsstufen einer antikörperhaltigen Probe (Serum, Liquor etc.) überschichtet und bei 37°C inkubiert. Nach kräftigem Spülen wird anschließend ein fluoreszenzmarkierter Antikörper gegen die das anti-CRP tragende Immunglobulinklasse, z. B. des Kaninchens oder, bei Alloantikörpern, des Menschen, wiederum in verschiedenen Verdünnungsstufen hinzugefügt. Nach erneutem intensiven Wässern der Gewebepräparate wird nunmehr die Schnittserie unter dem UV-Mikroskop betrachtet.

Für die Praxis stehen handelsübliche, mit Fluorescein-Isothiocyanat markierte anti-CRP- γ -Globulin-Chargen (z. B. der Fa. Behringwerke AG, 3550 Marburg/Lahn) zur Verfügung. Die mikroskopische Beurteilung stellt heute keine besonderen Anforderungen an den Untersucher mehr. Dies vor allem deshalb, weil auf dem einschlägigen Markt gute und leicht zu bedienende UV-Mikroskope angeboten werden, die zudem in den meisten Fällen auch eine einwandfreie fotografische Dokumentation ermöglichen (z. B. Fa. Carl Zeiss, 7082 Oberkochen).

Zum Nachweis von gewebe- oder zellgebundenem CRP ebenso wie zur Prüfung einer Adsorption des CRP an Zellmembranen wird die direkte Fluoreszenz-Technik angewandt, wobei im ersten Beispiel markiertes anti-CRP- γ -Globulin, im zuletzt genannten freies, fluoreszenzmarkiertes CRP mit dem Zell- oder Gewebepräparat inkubiert werden. Sollten in besonderen Fällen CRP-Antikörper in biologischen Flüssigkeiten nachgewiesen werden, so ist die indirekte der direkten Immunfluoreszenz-Technik vorzuziehen. CRP-Antikörper spielen nach bisherigen Erfahrungen jedoch allenfalls bei der Herstellung und Testung xenologer anti-CRP-Seren eine Rolle. In der klinischen Medizin hat man CRP-Antikörpern, etwa -Alloantikörpern, bis heute keine

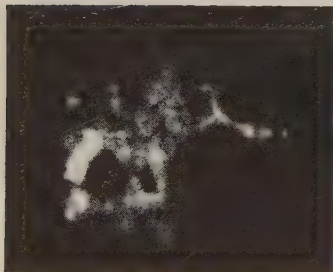
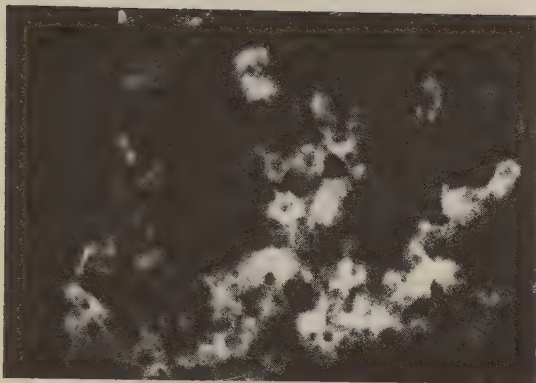
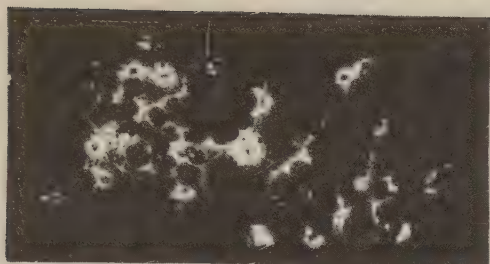


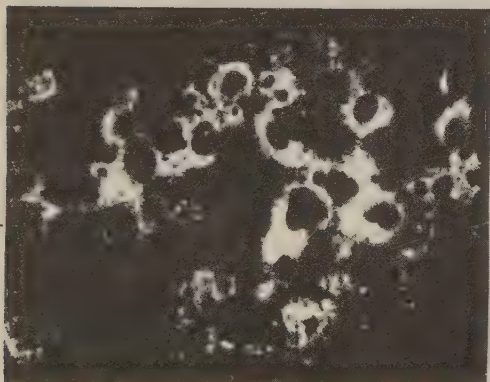
Abb. 9 Immunfluoreszenzoptische Befunde an den Zellen eines menschlichen Leberpunktionszylinders unter Verwendung fluoreszenzmarkierten anti-CRP- γ -Globulins (vom Kaninchen).

Abb. 10 Immunfluoreszenzoptische Befunde
an fixierten Gefrier-Zellausstri-
chen menschlicher Solitärtumoren
unter Verwendung eines fluoreszenz-
markierten anti-CRP- γ -Globulins
(vom Kaninchen).

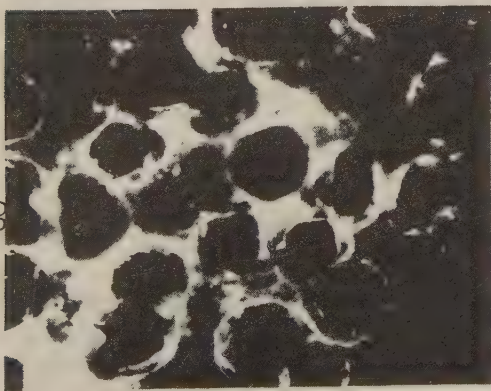
1



2



3



Beachtung geschenkt.

Bewertung der Methode

Immunfluoreszenz-Techniken sind an die Existenz von Organ-schnitten bzw. Zellausstrichen gebunden, wobei im allgemeinen die Gewebe Sitz des Antigens sind. Das Ergebnis ist deshalb in erster Linie von der Qualität des Schnittes bzw. des Zellausstriches abhängig. Darüber hinaus spielen der Reinigungsgrad der spezifischen Immunglobulinklasse des Antiserums, aber ebenso das Beladungsoptimum dieser Immunglobuline mit Fluoreszenzfarbstoff eine wichtige Rolle.

3 Schlusbetrachtungen

Das C-reaktive Protein (CRP) wurde lange Zeit als ein unter pathologischen Bedingungen auftretendes Protein biologischer Flüssigkeiten und Gewebe angesehen. Seine bis heute bestehengebliebene Bedeutung als Indikator für akut-entzündliche Phasen war zwar schon frühzeitig erkannt worden, Struktur und immunbiologische Funktion sind jedoch bis heute nicht eindeutig aufgeklärt. Seit seiner Entdeckung im Jahre 1930 wurde dennoch eine ganze Reihe neuerer Erkenntnisse über das CRP gewonnen. Insbesondere haben Untersuchungsergebnisse jüngerer Jahre das CRP in ein neues Licht gerückt.

Auf Grund neuerer Befunderhebungen und experimenteller Ergebnisse handelt es sich bei dem CRP, dem "Akute-Phase-Protein" des elektrophoretischen β/γ -Bereiches, um ein normales Serumprotein, das unter physiologischen Bedingungen in Konzentrationen von 47 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ bis 440 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ vorkommt. In akuten Phasen - primären oder intermediär-sekundären akuten Phasen auf dem Boden chronisch-progredient verlaufender Prozesse - kann die CRP-Konzentration im Serum auf das 1000-fache des Normalwertes ansteigen, und zudem in praktisch allen biologischen Flüssigkeiten, insbesondere aber am Ort des entzündlichen oder nekrotisierenden Geschehens, nachgewiesen werden. Gebildet wird das CRP in der Leber.

CRP scheint eine wichtige Rolle in der "first defense line" immunologischer Reaktionsabläufe zu spielen. Es gehört zwar den sogenannten unspezifischen, d. h. nicht-Antikörper-abhängigen Immunreaktionen an, vermag aber im Rahmen dieser Funktionen mit sehr wohldefinierten Antigengruppen, die in der Natur weit verbreitet sind, spezifisch zu reagieren. Am bekanntesten ist das Beispiel der Interaktion des CRP mit dem C-Polysaccharid von Pneumokokken

in Anwesenheit von Calcium-Ionen unter Bildung eines Präzipitats. Die Bindung erfolgt hier nach Ansicht einer Reihe von Autoren über das N-Acetyl-D-Galactosamin, nach Ansicht anderer Untersucher über Monophosphat. Tatsächlich konnte bewiesen werden, daß CRP sowohl mit verschiedenen Monophosphaten, mit Cholin-Phosphat, Lecithinen, Blutgruppensubstanzen, Phosphoryl-Cholin sowie mit Membranrezeptoren belebter Keime sowie menschlicher Lymphozyten Bindungen einzugehen vermag. Die Reaktion mit Bakterienoberflächen führt zu einer Begünstigung der Phagozytose dieser Keime, weshalb dem CRP in diesen Fällen die Rolle eines Opsonins zukommt. Die Adsorption des CRP und Integration in die Membranen lymphoider Zellen, vorzugsweise Thymus-abhängiger Lymphozyten, bewirkt nach einigen Autoren eine erhöhte Stimulierbarkeit, nach anderen Untersuchern eine Hemmung des H^3 -Thymidineinbaus in die DNS dieser Zellen (im Gefolge einer PHA-Stimulierung). Auch wenn diese Ergebnisse der Überprüfung bedürfen, so bestehen ganz offensichtlich Wechselwirkungen zwischen CRP und immunologisch kompetenten Zellen. Sicher ist jedenfalls, daß CRP von Lymphozyten adsorbiert werden und daß diese Bindung durch Cholinphosphat verhindert werden kann.

Von besonderem Interesse dürfte eine der jüngst aufgezeigten Beobachtung, nämlich die Fähigkeit des CRP, Komplement zu aktivieren, sein. Dies vor allem deshalb, weil die Komplementaktivierung durch CRP nach Art des "Classical Pathway" erfolgt und außerdem deshalb, weil CRP, an bakterielle oder zelluläre Oberflächen gebunden, eine komplementabhängige Lysis dieser korpuskulären Elemente auszulösen vermag.

Schließlich konnte auf Grund vergleichender sequenzanalytischer Studien an einem Teil der Aminosäuren des CRP, der Histokompatibilitätsantigene und der Immunglobuline von Mensch, Kaninchen und Maus gezeigt werden, daß zwischen den drei genannten Proteinen in bestimmten Bereichen ihrer Struktur Gemeinsamkeiten bestehen, die den Schluß zulassen, daß alle drei Proteinsysteme auf einen gemeinsamen Ursprung ihrer Evolution zurückzuführen sind. Obwohl auch mit Bezug auf derartige strukturanalytische Ergebnisse noch keineswegs Endgültiges erarbeitet worden ist, so zeichnen sich

doch außerordentlich aufschlußreiche neuere Erkenntnisse über die Stellung des CRP innerhalb immunbiologischer Reaktionen gegenüber genetisch fremden Substanzen ab.

4 L i t e r a t u r

- 1) ABERNETHY, T.J. and O.T. AVERY:
The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the C-reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C-polysaccharide of pneumococcus.
J. Exper. Med. 73, 173 (1941)
- 2) AHO, K.:
Studies of syphilitic antibodies. IV. Evidence of reactant partner common for C-reactive protein and certain anti-lipoidal antibodies.
Brit. J. vener. Dis. 45, 13 (1969)
- 3) ALARCON-SEGOVIA, D.:
Drug-induced lupus syndromes.
Mayo Clin. Proc. 44, 664 (1969)
- 4) ANDERSEN, H.J., L.Å. HANSON, and L.-Å. NILSON:
The presence of C-reactive protein in the neonatal period correlated to clinical conditions.
Acta Path. Microbiol. Scand. 54, 349 (1962) - abstract
- 5) ANDERSON, H.C. and M. McCARTY:
Determination of C-reactive protein in the blood as a measure of the activity of the disease process in acute rheumatic fever.
Amer. J. Med. 8, 445 (1950)
- 6) ANDERSON, H.C. and M. McCARTY:
Occurrence in the rabbit of an acute phase protein analogous to human C-reactive protein.
J. exp. Med. 93, 25 (1951)
- 7) ANZAI, T., K. SATO, M. FUKUDA and Ch.M. CARPENTER:
Immunoelectrophoretic patterns of C-reactive protein in serum and ascitic fluid from patients with cancer.
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 120, 94 (1965)
- 8) ASH, R.:
Non-specific precipitins for pneumococci fraction C in acute infections.
J. Infect. Dis. 53, 89 (1933)

- 9) BABALICH, A.K.
The determination of C-reactive protein in
surgical diseases.
Chirurgija (Moskva) 45, 121 (1969)
- 10) BAKOS, L., J. VAJDA und M. WEISZ:
Über die Rolle des C-reaktiven Proteins bei der
Anämie von polyarthritischen Kranken.
Z. Rheumaforsch. 23, 275 (1964)
- 11) BAUER, H. und D. SEITZ:
Klinische Untersuchungen über das Akute-Phase-Protein
C-reaktives Protein).
Klin. Wschr. 31, 323 (1953)
- 12) BECKER, W., W. RAPP, H.G. SCHWICK und K. STÖRIKO:
Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasma-
proteinen durch Immunpräzipitation.
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 3, 113 (1968)
- 13) BEREZHNOY, T.:
Cryoglobulins and C-reactive protein in the blood
serum of patients with lupus erythematosus.
Vestn. Derm. Vener. 39, 27 (1965)
- 14) BOLE, G.G., M.H. FRIEDLAENDER and C.K. SMITH:
Rheumatic symptoms and serological abnormalities
induced by oral contraceptives.
Lancet 1, 323 (1969)
- 15) BORON, P. und D. PROKOPOWICZ:
Untersuchungen über das Vorkommen von C-reaktivem
Eiweiß (CRP) im Liquor cerebrospinalis.
Dtsch. Gesundheitswes. 21, 2467 (1966)
- 16) BRAVENY, I. und E. KOPFLOW:
Das Zonenphänomen beim Nachweis des C-reaktiven
Proteins (CRP).
Münch.med.Wochenschr. 40, 2314 (1968)
- 17) BURTIN, P.:
Étude immunoélectrophorétique de la C-reactive
protéine.
Sem. Hôp. Paris 33, 2177 (1957)

- 18) BUSTAMANTE, V.:
Étude immunoélectrophrétique sur papier et
gélose de la localisation des différents anti-
corps bactériens et la CRP.
Bull. Soc. Chim. Biol. 39, 155 (1957)
- 19) BUSTAMANTE, V., J. ARINO et L.M.Y. PINIÉ:
Localisation de la protéine C reactive dans
les fractions électrophorétiques du sérum.
Presse med. Paris 65, 313 (1957)
- 20) CARPENTER, C.M., C.L. HEISKELL and H. ALDRICH:
The significance of abnormal serum proteins
in cancer detection.
Rocky Mtn. med. J. 63, 59 (1966)
- 21) CHU, P.K., L. WONG and Y.K. PAIK:
Urinary C-reactive protein and lysozyme in
renal homotransplantation.
Hawaii Med. J. 31, 262 (1972)
- 22) CONNELL, E.B. and J.T. CONNELL:
C-reactive protein in pregnancy and
contraception.
Amer. J. Obstet. Gynaec. 110, 633 (1971)
- 23) COONS, A.H.:
Labelled antigens and antibodies.
Ann. Rev. Microbiol. 8, 333 (1954)
- 24) COONS, A.H.:
Fluorescent antibody methods in cytochemical
methods.
Acad. Press, New York 1958
- 25) CROCKSON, R.A., C.J. PAYNE, A.P. RATCLIFF
and J.F. SOOTHILL:
Time sequence of acute phase reactive proteins
following surgical trauma.
Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 14, 435 (1966)
- 26) CROXATTO, H.D., E.T. NISHIMURA, K. YAMADA
and Y. HOKAMA:
Liver necrosis induced by homologous "acute
phase protein" in rabbits.
Arch. Path. (Chicago) 86, 383 (1968)

- 27) DANIELS, J.C.:
Serum protein profiles in thermal burns.
II. Protease inhibitors, complement factors,
and C-reactive protein.
J. Trauma 14, 153 (1974)
- 28) DARCY, D.A.:
Polymorphonuclear cell fractions which stimulate
increase of an acute phase protein in the rat.
Brit. J. Exper. Path. 49, 525 (1968)
- 29) DARCY, D.A.
Liver cell fractions which stimulate increase
of an acute phase protein in the rat.
Brit. J. Exper. Path. 49, 614 (1968)
- 30) DAVIS, R.V., R.M. BLANKEN, and R.J. BEAGLE:
Diazotized m-aminobenzyloxymethyl-cellulose
as the insoluble matrix for an immunoabsorbent
used in the purification of antigens and antibodies.
Biochemistry (Washington) 8, 2706 (1969)
- 31) DELANAY, A., P. BRUYET, S. BASIN, D. HIOCO,
M. HENON et C.H. MEIGNIEN:
Sérologie des états inflammatoires.
I. La protéine C réactive.
Presse méd. Paris 64/79, 1814 (1956)
- 32) DELLAMARTINA, F.:
CRP- "Feindiagnostik" und ihr klinischer
Anwendungskreis.
Z. Rheumaforsch. 21, 274 (1962)
- 33) DIMMICK, B.M.:
A report of C-reactive protein.
Amer. J. Med. Technol. 23, 53 (1957)
- 34) DUVINA, P.L., F. BBETTINI e S. BERTI:
Comportamento della proteina C reattiva
nei primi quaranta giorni di vita del
neonato immaturo,
Riv. Clin. Pediat. 77, 76 (1966)

- 35) FEDINA, V.A.:
Changes in C-reactive protein during cytostatic chemotherapy.
Laborat. delo (Moskva) 4, 218 (1970)
- 36) FELIX, N.S., H. NAKAJIMA and B.M. KAGAN:
Serum C-reactive protein in infections during the first six months of life.
Pediatrics 37, 270 (1966)
- 37) FISHEL, C.W., N.A. VEDROS and M.V. ROTHLAUF:
Serologic and fractionation studies of C-reactive protein.
J. Infect. Dis. 106, 174 (1960)
- 38) FRANK, O.:
Quantitative Bestimmung des C-reaktiven Proteins bei progressiver chronischer Polyarthritits.
Verh. Dtsch. Ges. Rheumatol. 3, 54 (1974)
- 39) FRYAZINOVA, I.B.:
The effect of Cx-reactive protein on the immunologic reactivity of different aged rabbits.
Bjull. eksper. biol. med. (Moskva) 65, 71 (1968)
- 40) FUKUDA, M., C.L. HEISKELL and C.M. CARPENTER:
A method for quantitative determination of C-reactive protein using gel-diffusion.
Amer. J. Clin. Path. 32, 507 (1959)
- 41) GABL, F.:
Das C-reaktive Protein und seine Bestimmung durch Immundiffusion im Agargel.
Med. Klin. 57, 1768 (1962)
- 42) GANROT, P.O. and C.-O. KINDMARK:
A simple two-step procedure for isolation of C-reactive protein.
Biochim. Biophys. Acta (Amsterdam) 194, 443 (1969)
- 43) GANROT, P.O. and C.O. KINDMARK:
C-reactive protein- a phagocytosis-promoting factor.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 24, 215 (1969)

- 44) GAUTIER, A. et J.J. SCHEIDEGGER:
Que'est-ce que la protéine-C?
Schweiz. Med. Wschr. 87, 950 (1957)
- 45) GAUTIER, A. und M. VEST:
Zur Bestimmung des C-reaktiven Proteins bei
verschiedenen Erkrankungen des Kindesalters.
Ann. Paediat. 186, 210 (1956)
- 46) GAY, St. und G. GEILER:
Nachweis des C-reaktiven Proteins in der Synovial-
flüssigkeit bei aktiver rheumatoider Arthritis und
seine mögliche pathogenetische Bedeutung.
Dtsch. Gesundheitswes. 25, 1816 (1970)
- 47) GAY, St. und G. GEILER:
Neue Aspekte zur Bedeutung des C-reaktiven
Proteins.
Zschr. ges. inn. Med. 26, 217 (1971)
- 48) GAY, St., M. ROSENKRANZ und G. GEILER:
Das Vorkommen des C-reaktiven Proteins in der
normalen Synovialflüssigkeit.
Acta biol. med. germ. 28, 197 (1972)
- 49) GAY, S., H. MICHALSKI, M. ROSENKRANZ und G. GEILER:
In-vitro-Untersuchungen zum Nachweis des C-reaktiven
Proteins als "phagocytosis promoting factor"
Acta histochem. (Jena) 42, 273 (1972)
- 50) GEYER, G.:
Über das Vorkommen und die diagnostische Wertbarkeit
des C-reaktiven Proteins bei paraproteinämischen
Erkrankungen.
Z. klin. Med. 156, 25 (1959)
- 51) GHISLANDI, E.:
La proteina reattiva C nella silicosi e
nella silicotubercolosi.
Med. Lavoro 49, 173 (1958)

- 52) GIELDANOWSKI, J., W. JANKOWSKI and A. PELCZARSKA:
C-reactive protein and blastic reaction in chronic tonsillitis.
Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.) 20, 361 (1972)
- 53) GMEINER, R.:
Nachweis des C-reaktiven Proteins in Blutspender-
seren. Vergleichende Untersuchungen mit dem CRP-
Agglutinationstest und der zweidimensionalen
Immun-Doppeldiffusionstechnik im Agargel.
Dissertation Erlangen-Nürnberg 1969
- 54) GÖTZ, H.:
Immunologische Plasmaprotein-Diagnostik.
W. de Gruyter & Co., Berlin-New York 1973
- 55) GÖTZ, H. and P. GRAU:
C-reactive protein in sera of blood donors.
Studies on 1000 sera of blood donors using the
twodimensional double diffusion technique in
agar gel.
Folia allergologica 19, 182 (1972)
- 56) GÖTZ, H. und F. SCHEIFFARTH:
Zur Frage von Antigenbeziehungen des C-reaktiven
Proteins zu normalen Lipoproteiden und zur β_1 C-
Fraktion.
Zschr. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8, 311 (1970)
- 57) GÖTZ, H., M. PÉREZ-MIRANDA und F. SCHEIFFARTH:
Antigeneigenschaften des C-reaktiven Proteins.
Zschr. klin. Chem. u. klin. Biochem. 7, 275 (1969)
- 58) GÖTZ, H., M. PÉREZ-MIRANDA, and F. SCHEIFFARTH:
Newer findings about C-reactive protein (C-reactive
protein a normal serum protein?)
17th Colloquium, Protides of the Biological Fluids (1969)
- 59) GOLDNER, F. and C. MEADOR:
Transaminase and C-reactive protein levels in
acute myocardial infarction; evaluation of indices
of necrosis.
South. Med. J. 48, 1339 (1955)

- 60) GOODMAN, M., M.J. BRENNAN and W.L. SIMPSON:
Orosomucoid, C-reactive protein and albumin
variances measured immunochemically in cancer
patients.
Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 2, 111 (1956)
- 61) GOTSCHLICH, E.C. and G.M. EDELMAN:
C-reactive protein: a molecule composed of
subunits.
Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 54, 558 (1965)
- 62) GOTSCHLICH, E.C. and G.M. EDELMAN:
Binding properties and specificity of
C-reactive protein.
Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 57, 706 (1967)
- 63) GOTSCHLICH, E.C. and T.-Y. LIU:
Structural and immunological studies on the
pneumococcal C polysaccharide.
J. Biol. Chemistry 242, 463 (1967)
- 64) GOTSCHLICH, E., and C.A. STETSON:
Immunological cross-reactions among mammalian
acute phase proteins.
J. Exper. Med. 111, 441 (1960)
- 65) GRABAR, P. and P. BURTIN:
Immuno-elektrophoretische Analyse.
Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-
New York 1964
- 66) GRABAR, P. et C.A. WILLIAMS:
Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés
électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange
de protéines; application au sérum sanguin.
Biochim. Biophys. Acta 10, 193 (1953)
- 67) GRAF, L. and M.M. RAPPORT:
C-reactive protein in cancer; a study of
216 patients.
Cancer 11, 255 (1958)
- 68) GREENE, E.L., S.P. HALBERT, and J.C. PALLAVICINI:
Immunochemical studies of cystic fibrosis tissues:
The detection of increased concentration of an
antigen which was identified as C-reactive protein.
Int. Arch. Allergy 40, 184 (1971)

- 69) GREIF, St. und E. EBER:
Die klinische Bedeutung des C-reaktiven Proteins
bei Neoplasien.
Wiener Med. Wschr. 111, 720 (1961)
- 70) HAGHIGHI, L.:
C-reactive protein in malaria.
J. Clin. Path. 22, 430 (1969)
- 71) HEDLUND, P.:
The production of the acute phase protein after
nonspecific stimulation.
Acta med. Scand. 118, 329 (1944)
- 72) HEDLUND, P.:
The Appearance of acute phase protein in
various diseases.
Acta med. Scand. Supp. 196, 579 (1947)
- 73) HEDLUND, P. and I. BRATTSTEIN:
Isolation of acute phase protein by means of
continuous zone electrophoresis.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 8, 213 (1956)
- 74) HEREMANS, J.:
Les globulines sériques du système gamma. Leur
nature et leur pathologie. P. 84-91
Arscia S.A., Bruxelles et Masson et Cie, Paris-VI^e, 1960
- 75) HILL, A.G.S.:
C-reactive protein in the chronic rheumatic diseases.
Lancet 2, 807 (1951)
- 76) HOKAMA, Y. and R.F. RILEY:
Purification of C-reactive protein an acute
phase protein of human serum.
Biochim. Biophys. Acta 74, 305 (1963)
- 77) HOKAMA, Y., M.K. COLEMAN and R.E. RILEY:
In vitro effects of C-reactive protein
on phagocytosis.
J. Bact. 83, 1077 (1962)
- 78) HOKAMA, Y., M.K. COLEMAN and R.F. RILEY:
The immunologic properties and identity of muco-
polysaccharides associated with C-reactive protein
in acute phase serum.
J. Immunol. 98, 529 (1967)

- 79) HOKAMA, Y., M.K. COLEMAN and R.F. RILEY:
The nature of C-reactive protein in serum.
Evidence for an equilibrium form containing
a mucopolysaccharide of serum.
J. Immunol. 98, 521 (1967)
- 80) HOKAMA, Y., E.T. NISHIMURA and S.C. CHOU:
Enhancement of catalase activity in subcellular
fractions of Tetrahymena pyriformis following
addition of purified C-reactive protein.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 2, 899 (1971)
- 81) HOKAMA, Y., K. YAMADA and L. KIMURA:
Antigenic relationship of normal hepatic organelle
fraction to CxRP and the effect of CxRP and CRP on
peroxisomal oxidase activity.
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 4, 359 (1972)
- 82) HOKAMA, Y., V. YOUNG and M. HIGAKI:
Effect of soluble blood-group substances on the
phagocytic function of blood leucocytes.
J. Reticuloendothelial Soc. 9, 451 (1971)
- 83) HOKAMA, Y., H.D. CROXATTO, K. YAMADA and E.T. NISHIMURA:
The occurrence of immunologically common antigenic
components in C-reactive protein and human hepatic
and erythrocyte catalases.
Cancer Res. 27, 2300 (1967)
- 84) HOKAMA, Y., Y.P. PAIK, E. YANAGIHARA and L. KIMURA:
Effect of C-reactive protein and blood-group
substances on 3H-thymidine incorporation into DNA
of leucocyte.
J. Reticuloendothelial Soc. 13, 111 (1973)
- 85) HOKAMA, Y., R. TAM, W. HIRANO and L. KIMURA:
Significance of C-reactive protein binding by
lecithin: A simplified procedure for CRP isolation.
Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 50, 53 (1974)
- 86) HOKAMA, Y., K. YAMADA, S.N. MOIKEHA and E.T. NISHIMURA:
The metabolic interrelationship and physiochemical
analysis of C-reactive protein and hepatic catalase.
Cancer Res. 29, 542 (1969)

- 87) HOKAMA, Y., K. YAMADA, C. SCHELLER and E.T. NISHIMURA:
Relationship of Cx-reactive protein response to induction of liver and kidney catalases following hematin administration into rabbits.
Cancer Res. 30, 1319 (1970)
- 88) HOKAMA, Y., L. KIMURA, S. PERREIRA, A. ABE and K. YAMADA:
C-reactive protein in peroxisomes and its relationship to the regulation of liver peroxisomal oxidases in C3H mouse with Ehrlich Ascites Tumor growth.
Fed. Proc. 31, 641 abstr. (1972)
- 89) HORNUNG, M.O.:
Growth inhibition of human melanoma cells by C-reactive protein activated lymphocytes.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 139, 1166 (1972)
- 90) HORNUNG, M.O. and S. FRITCHI:
Isolation of C-reactive protein and its effect on human lymphocytes in vitro.
Nature (New Biol.) 230, 84 (1971)
- 91) HURLIMANN, J., G.J. THORBECKE and G.M. HOCHWALD:
The liver as the site of C-reactive protein formation.
J. Exper. Med. 123, 365 (1966)
- 92) IWASZKO-KRAWCZUK, W.:
Stimulating effect of C-reactive protein on phagocytosis in the newborn.
Acta Paediatr. Acad. Sci. Hung. 15/2, 115 (1974)
- 93) IWASZKO-KRAWCZUK, W.:
C-reactive protein in newborn infants born at term with signs of intrauterine dystrophy.
Paediatr. Pol. 49, 579 (1974)
- 94) IWASZKO-KRAWCZUK, W.:
Presence of C-reactive protein in healthy newborn infants, born at term.
Ginekol. Pol. 45, 567 (1974)

- 95) JACOT-GUILLARMOD, H.:
Libération d'un composant du complément par
les leucocytes humains in vitro.
Experientia (Basel) 25, 1084 (1969)
- 96) JENNINGS, J., J.T. SETO and D.A. ANDERSON:
Effect of actinomycin D on the production
of acute phase protein in the rabbit.
Experientia 25, 305 (1969)
- 97) KAPLAN, M.H. and J.E. VOLANAKIS:
Interaction of C-reactive protein complexes with
the complement system. I. Consumption of human
complement associated with the reaction of C-
reactive protein with pneumococcal C-polysaccharide
and with the choline phosphatides, lecithin and
sphingomyelin.
J. Immunology 112, 2135 (1974)
- 98) KATBEH, Z.:
Quantitative CRP-Bestimmung durch Immun-
diffusion. Vergleich zur Latex-CRP-Objekt-
träger-Methode.
Ärztl.Lab. 17, 330 (1971)
- 99) KAY, D.R., G.G. BOLE, Jr., and W.J. LEDGER:
Antinuclear antibodies, rheumatic factor and
C-reactive protein in serum of normal women
using oral contraceptives.
Arthritis Rheum. 14, 239 (1971)
- 100) KEITEL, W.:
Das C-reaktive Protein im Alter und bei
Gefäßleiden.
Z. ges. inn. Med. 13, 591 (1958)
- 101) KEITEL, W.:
Das C-reaktive Protein.
Med. Klin. 57, 1925 (1962)
- 102) KEITEL, W.:
Bedeutung des CRP.
Med. Klin. 57, 2122 (1962)

- 103) KEITEL, W., O. DIESNER und N. BANNERT:
Das C-reaktive Protein. Literaturübersicht
und Erfahrungen bei 2000 eigenen Bestimmungen.
Beitr. Rheumat. 8, 9 (1964)
- 104) KHAN, W.N., R.V. ALI, M. WERTHMANN
and S. ROSS:
Immunglobulin M determinations in neonates
and infants as an adjunct to the diagnosis
of infection.
J. Pediat. 75, 1282 (1969)
- 105) KINDLER, U., G. PIETREK und G. WIPPERN:
Die Häufigkeit des Rheumafaktors und C-
reaktiven Proteins bei obligaten Paraproteinämien.
Verh.Dtsch.Ges.Inn.Med. 77, 780 (1971)
- 106) KINDMARK, C.-O.:
Quantitative measurement of C-reactive
protein in serum.
Clin. Chim. Acta 26, 95 (1969)
- 107) KINDMARK, C.-O.:
Identification of C-reactive protein by agarose
gel electrophoresis of human serum or plasma.
Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 35, 491 (1971)
- 108) KINDMARK, C.-O.:
Stimulating effect of C-reactive protein on
phagocytosis of various species of patho-
genic bacteria.
Clin. exp. Immunol. 8, 941 (1971)
- 109) KINDMARK, C.-O.:
In vitro binding of human C-reactive protein
by some pathogenic bacteria and Zymosan.
Clin. Exper. Immunol. 11, 283 (1972)
- 110) KINDMARK, C.-O. and J.I. THORELL:
Quantitative determination of individual serum
proteins by radio-electroimmuno-assay and use
of 125I-labelled antibodies (application to C-
reactive protein).
Scand. J. Clin.Lab. Invest. 29/Suppl.124, 49 (1972)

- 111) KLEMM, D.:
Zum Verhalten des C-reaktiven Proteins bei
endolymphatischer und percutaner Strahlen-
behandlung maligner Lymphome.
Klin. Wochenschr. 46, 1310 (1968)
- 112) KLUTHE, R. und H. SARRE:
Die Bedeutung ausgewählter einfacher Serum-
eiweißuntersuchungen für die Beurteilung der
Aktivität chronisch entzündlicher Erkrankungen.
Med. Klin. 57, 919 (1962)
- 113) KRASILNIKOVA, M.N. and K.D. ALISEVICH:
C-reactive protein content of the cerebro-
spinal fluid and blood serum in mental disorders.
Zh. Nevropatol. Psikhiatr. 70, 1678 (1970)
- 114) KUNTZ, E.:
Der Nachweis von C-reaktivem Protein bei Kranken
mit unspezifischen, mit tuberkulösen und mit
malignen Lungenveränderungen.
Tuberk. Arzt 17, 420 (1963)
- 115) KUSHNER, L. and M.H. KAPLAN:
Studies of acute phase protein:
I. An immuno-histochemical method for the
localization of Cx-reactive protein in rabbits.
Association with necrosis in local inflammatory
lesions.
J. Exper. Med. 114, 961 (1961)
- 116) KUSHNER, I. and M.H. KAPLAN:
Studies of acute phase protein.
III. Elicitation of Cx-reactive protein in
relation to immune elimination of antigen and
appearance of circulating antigen-antibody complexes.
J. Immunol. 92, 55 (1964)
- 117) KUSHNER, I. and J.A. SOMERVILLE:
Estimation of the molecular size of C-reactive
protein and Cx-reactive protein in serum.
Biochim. Biophys. Acta 207, 105 (1970)

- 118) KUSHNER, I. and J. SOMERVILLE-VOLANAKIS:
Studies of synovial and serum C-reactive protein
in experimental arthritis in rabbits.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 142, 112 (1973)
- 119) KUZMAK, N.I.:
Acute phase reactions of the blood serum
in patients with thyreotoxicosis.
Vrac. delo (Kiev) 5, 105 (1971)
- 120) KWAPINSKI, J.B. and M. L. SNYDER:
The Immunology of Rheumatism.
Appleton-Century-Crofts, New York 1962, p. 153 ff.
- 121) LAPSEWICZ, A.:
C-reactive protein (CRP) in the cerebrospinal fluid.
Postep. Hig. Med. Dosw. 18, 257 (1964)
- 122) LAUBINGER, G. und E.M. PRIEST:
Das Verhalten des C-reaktiven Proteins beim
Myokardinfarkt. Ein Vergleich mit der Trans-
aminase, Blutsenkung und Leukozytenzahl.
Klin. Wschr. 38, 662 (1960)
- 123) LAURELL, C.-B.:
Quantitative estimation of proteins by electro-
phoresis in agarose gel containing antibodies.
Analyt. Biochem. 15, 45 (1966)
- 124) LAURELL, C.B.:
Electrophoretic and electro-immuno-
chemical analysis of proteins.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 29/Suppl.124, 1 (1972)
- 125) LIBRETTI, A., M.A. KAPLAN and M. GOLDIN:
Precipitin analysis of C-reactive protein
by gel-diffusion.
Proc.Soc.Exper.Biol. 90, 481 (1955)
- 126) LING, N.R., E. SPICER, K. JAMES and N. WILLIAMSON:
The activation of human peripheral lymphocytes
by products of staphylococci.
Brit. J. Haematol. 11, 425 (1965)

- 127) LÖFSTRÖM, G.:
Serologic studies in acute pneumonias.
Nord. Med. 2, 1927 (1939)
- 128) LÖFSTRÖM, G.:
Nonspecific capsular swelling in pneumococci.
Acta med. Scand. 110, 49 (1942)
- 129) LÖFSTRÖM, G.:
Comparison between the reaction of acute phase serum with pneumococcus C-polysaccharide and with pneumococcus type 27.
J. Exper. Path. 25, 21 (1944)
- 130) LÖFSTRÖM, G.:
Acute phase serum in rabbits: Capacity of pneumococcus strains which react specifically with type 16 antipneumococcus serum to cause nonspecific capsular swelling with acute phase serum from rabbits.
Acta med. Scand. Suppl. 196, 575 (1947)
- 131) MacLEOD, C.M. and O.T. AVERY:
The occurrence during acute infection of a protein not normally present in the blood. II. Isolation and properties of the C-reactive protein.
J. Exper. Med. 73, 183 (1941)
- 132) MacLEOD, C.M. and O.T. AVERY:
The occurrence during acute infection of a protein not normally present in the blood. III. Immunological properties of the C-reactive protein and its differentiation from normally blood proteins.
J. Exper. Med. 73, 191 (1941)
- 133) MacFARLANE, H., R.A. CROCKSON and J.V. JONES:
C-reactive protein in macroglobulinaemia and multiple myelomatosis.
Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 13, 273 (1966)
- 134) MANCINI, G., A. CARBONARA and J. HEREMANS:
Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochemistry 2, 235 (1965)

- 135) MANCINI, G., J.P. VAERMAN, A.O. CARBONARA
and J.F. HEREMANS:
A single-radial-diffusion method for the
immunological quantitation of proteins.
Protides Biol.Fluids, 11th Colloquium, Bruges 1963.
In: PEETERS, H. Proceedings, Elsevier Publishing
Company, Amsterdam 1964, S.370
- 136) MARKOVA, O.N. and E.B.BAZANOVA:
C-reactive protein and the value of its study
in compound diaphysary fractures.
Ortop.Travmat. Protez. (Moskva-Char'kov) 4,
69 (1971)
- 137) MASI, A., F.ANTONINI and F.BETTINI:
La Proteina reattiva C nelle malattie infettive
dell'età pediatrica.
Riv.Clin.Ped. VI, 58, 669 (1956)
- 138) MATSUDA, J.:
Influence of complements on antigen-antibody
reaction with special reference to CRP test.
Ipn, I.Clin.Pathol. 22 (Suppl.), 263 (1974)
- 139) MCCARTY, M.:
The occurrence during acute infections of a
protein not normally present in the blood:
IV.Crystallization of the C-reactive protein.
J.Exper.Med. 85, 491 (1947)
- 140) MCCONKEY, B., R.A.CROCKSON and A.P.CROCKSON:
The assessment of rheumatoid arthritis. A study
based on measurements of the serum acute-phase
reactants.
Quaterl.J.Med. (N.S.) 41, 115 (1972)
- 141) MCKENNA, C.H., K.C.WIEMAN and L.E.SHULMAN:
Oral contraceptives, rheumatic disease,
and autoantibodies.
Arthritis and Rheum. 12, 313 (1969)
- 142) MILLIAN, St.J. and C.E.CHERUBIN:
Serologic investigations in narcotic addicts:
III: Latex fixation, C-reactive protein,
"Monotest", serum proteins and SH antigen.
Amer.J.Clin.Path. 56, 693 (1971)

- 143) MOAWEN, Y.E.:
Neuere Aspekte über das C-reaktive Protein.
Dissertation, Erlangen-Nürnberg 1969
- 144) MONTELLA, S. and H.F. WOOD:
Studies on the Cx-reactive protein.
II. Inhibition of the Cx-reactive protein
response in rabbits by blockade of the
reticulo-endothelial system.
J. Exper. Med. 106, 321 (1957)
- 145) MÜLLER, W.:
Über die Bedeutung des C-reaktiven Proteins bei
der Beurteilung der Aktivität akuter rheumatischer
Erkrankungen.
Rheumaforsch. 15, 31 (1956)
- 146) MÜLLER, W. und H.J. KÄHLER:
Das Auftreten des C-reaktiven Proteins im Serum.
Dtsch.med.Wschr. 81, 1410 und 1415 (1956)
- 147) Müller, W., N. KLEINE und M. MATTHES:
Die Präzipitationsanalyse des C-reaktiven Proteins
im Agar-Diffusionstest und seine Lokalisation in
der Immunoelktrophorese.
Z. Rheumaforsch. 17, 226 (1958)
- 148) NAKAMURA, R.M., R. MAGSAGSAY, J. FORD
und G.M. KUNITAKE:
Significant variations in commercial C-reactive
protein antisera.
Amer. J. Clin. Path. 44, 290 (1965)
- 149) NEELEY, W.E. and R.B. BENYO:
Evaluation of the Lewis test.
Lewis test compared to CRP tests.
Oncology 26, 452 (1972)
- 150) NEIKOV, G.N. and L.T. KAPARULINA:
Comparative assessment of C-reactive protein
and sialic acids in the diagnosis of acute
appendicitis.
Vestnchir. Grekova (Leningrad) 103, 67 (1969)

- 151) NILSSON, L.Å.:
Immunodiffusion analysis of human, monkey
and rabbit acute phase proteins.
Int. Arch. Allergy 32, 245 (1967)
- 152) NILSSON, L.Å.:
Comparative testing of precipitation methods
for quantitation of C-reactive protein in
blood serum.
Acta Path. Microbiol. Scand. 73, 129 (1968)
- 153) NILSSON, L.Å.:
C-reactive protein in apparently healthy
individuals (blood donors) related to age.
Acta Path. Microbiol. Scand. 73, 619 (1968)
- 154) NILSSON, L.-Å. and L.Å. HANSON:
Studies on C-reactive protein. I. Demonstration
of C-reactive protein by precipitation in capillary
tubes and by precipitation in agar gel.
Acta Path. Microbiol. Scand. 54, 335 (1962)
- 155) NILSSON, L.-Å. and G. TIBBLIN:
C-reactive protein in a random sample of Swedish
men aged fifty. Distribution and relation to
clinical manifestations.
Acta Med. Scand. 183, 467 (1968)
- 156) NISHIMURA, K.:
Gel diffusion and immunoelectrophoretic studies
of C-reactive protein with particular reference
to its presence in hemoglobin SS disease.
J. Kyoto 65, 1193 (1959)
- 157) NISHIMURA, E.T., S. TAKAHARA and Y. HOKAMA:
Interrelationship of catalase and C-reactive
protein in acatalasemic erythrocytes.
Arch. Biochem. Biophys. 126, 121 (1968)
- 158) OISHI, N.:
Relationship of C-reactive protein in autologous
plasma of cancer patients and choline phosphate
in lymphocyte responses to phytohemagglutinin.
J. Reticuloendothelial Soc. 14, 242 (1973)

- 159) OTT, V.R. und K. SCHMIDT:
Die quantitative Bestimmung des C-reaktiven
Proteins in der rheumatologischen Aktivitäts-
diagnostik.
Z. Rheumaforsch. 31, 82 (1972)
- 160) OTTAVIANI, A.:
La proteina C nel siero e nel secreto nasale
in alcune affezioni delle vie aeree superiori.
Ricerche sierologiche ed immunoelettroforetiche.
Arch. Ital. Oto-Rino-Laringol. 70, 157 (1959)
- 161) OUCHTERLONY, Ö.:
Diffusion in gel methods for immunological analysis.
Progress in Allergy 5, 1 (1958), S.Karger, Basel-New York
- 162) OUDIN, J.:
Specific precipitation in gels and its
application to immunochemical analysis.
Meth. Med. Res. 5, 335 (1952)
- 163) PARISH, W.E.:
Studies on vasculitis. I. Immunoglobulins,
C, C-reactive protein, and bacterial
antigens in cutaneous vasculitis lesions.
Clin. Allergy 1, 97 (1971)
- 164) PARKER, W.L., W. STACKI and J.C. WILT:
C-reactive protein in virus infection.
Canad. Med. Ass. J. 87, 791 (1962)
- 165) PARKS, W.P.:
Radioimmunoassay of mammalian type C
polypeptides. IV. Characterization of woolly
monkey and gibbon viral antigens.
Int. J. Cancer 12, 129 (1973)
- 166) PASININ, P.M.:
Zur Bestimmung von C-reaktivem Eiweiß.
Lab. Delo 7, 3 (1961)

- 167) PATTERSON, L.T. and R.D. HIGGINBOTHAM:
Mouse C-reactive protein and endotoxin-
induced resistance.
J. Bacteriol. 90, 1520 (1965)
- 168) PATTERSON, L.T. and E.C. MORA:
The C-reactive protein response and disease
resistance in the domestic fowl.
Texas Rept. Biol. Med. 23, 600 (1965)
- 169) PATTERSON, L.T., J.M. HARPER and R.D. HIGGINBOTHAM:
Association of C-reactive protein and circulating
leucocytes with resistance to Staphylococcus aureus
infection in endotoxin-treated mice and rabbits.
J. Bact. 95, 1375 (1968)
- 170) PEPYS, J. and J.L. LONGBOTTOM:
Antigenic and C-substance activities of related
glykopeptides from fungal, parasitic and vege-
table sources.
Int. Arch. Allergy 41, 219 (1971)
- 171) PÉREZ-MIRANDA, M.:
Structural characterization of the
C-reactive protein.
Rev. Méd.Univ. Navarra 16, 217 (1972)
- 172) PÉREZ-MIRANDA, M. and H. GÖTZ:
C-reactive protein - a normal immunoglobulin?
Lancet (London) 2, 1305 (1968)
- 173) PERLMAN, E., J.G.M. BULLOWA and R. GOODKIND:
An immunological and electrophoretic comparison
of the antibody to C-polysaccharide and C-reactive
protein of acute phase serum.
J. Exper. Med. 77, 97 (1943)
- 174) PHILIPSON, L. and E. TVETERÅS:
C-reactive protein in infancy.
Its appearance during the first year of life,
transplacental passage and electrophoretic
pattern.
Acta Paediat. Scand. 46, 1 (1957)

- 175) PIMSTONE, B.L.:
Systemic lupus erythematosus exacerbated
by oral contraceptives.
S. Afr. J. Obstet. Gynaec. 4, 62 (1966)
- 176) POLLAK, V.E.:
Antinuclear antibodies in families of
patients with systemic lupus erythematosus.
New Engl. J. Med. 271, 165 (1964)
- 177) PROKOPOWICZ, D. und M. GIERASINOW:
C-reaktives Eiweiß (CRP) bei Typhuskrankheiten.
Arch. Hyp. Bakt. 152, 539 (1968)
- 178) RAPPORT, M.M., A.E. SCHWARZ and L. GRAF:
C-reactive protein in patients following
operation.
Ann. Surg. 145, 321 (1957)
- 179) RASCHE, B., G. BAVING und W.T. ULMER:
Über die Bedeutung des C-reaktiven Proteins (CRP) bei
Bergarbeiterpneumokoniose mit chronisch obstruktiver
Bronchitis und bei chronisch obstruktiver Bronchitis
ohne Pneumokinose.
Respiration 28, 457 (1971)
- 180) RAY, J.G.:
Agar-gel precipitin-inhibition technique
for C-reactive protein determinations.
I. Preliminary evaluation of technique.
Appl. Microbiol. 13, 297 (1965)
- 181) RAY, J.G., Jr. and D.E. SHAY:
Agar-gel precipitin-inhibition technique
for C-reactive protein determinations.
II. Degree of sensitivity and reproducibility.
Appl. Microbiol. 13, 301 (1965)
- 182) RILEY, R.F. and M.K. COLEMAN:
Isolation of C-reactive proteins of man,
monkey, rabbit and dog by affinity chromatography
on phosphorylated cellulose.
Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 30, 483 (1970)

- 183) RILEY, R.F. and W. ZONTINE:
Further observations on the properties of
dog C-reactive protein and the C-reactive
protein response in the dog.
J. Lab. Clin. Med. 80, 698 (1972)
- 184) RILEY, R.F., M.K. COLEMAN and Y. HOKAMA:
Effects of drugs on Cx-protein response in the
rabbit.
Arch. Int. Pharmacodyn. 148, 61 (1964)
- 185) RILEY, R.F., M.K. COLEMAN and Y. HOKAMA:
Behavior of the C-reactive protein during
purification and electrophoretic characterization.
Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 11, 530 (1965)
- 186) RILEY, R.F., M.K. COLEMAN and H.D. SNOW:
Site of formation of CxRP.
Experientia 25, 278 (1969)
- 187) ROANTREE, R.J., F.A. PEZOLD and L.A. RANTZ:
The identification of the C-reactive protein
and various antibodies in the serum gamma
globulin obtained by continuous flow paper
electrophoresis.
Clin. Res. Proc. 5, 159 (1957)
- 188) ROMERO-AGUIRRE, F.:
Apport au diagnostic biochimique du
cancer de la prostate.
J. Urol. Néphrol. (Paris) 75, 191 (1969)
- 189) ROSSI, W. e E. BOSCHETTI:
La proteina C-reattiva nel traumatizzati
e suo significato clinico.
Chir. Ital. 19, 211 (1967)
- 190) ROZANSKY, R. and B. BERCOVICE:
C-reactive protein during pregnancy
and in cord blood.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 92, 4 (1956)
- 191) SABEL, K.G.:
The clinical usefulness of C-reactive protein
(CRP) determinations in bacterial meningitis and
septicemia in infancy.
Acta Paediatr. Scand. 63, 381 (1974)

- 192) SAXSTAD, J., L.-Å. NILSSON and L.Å. HANSON:
C-reactive protein in serum from infants as
determined with immunodiffusion techniques.
I. Healthy infants.
Acta Paediat. Scand. 59, 25 (1970)
- 193) SAXSTAD, J., L.-Å. NILSSON and L.Å. HANSON:
C-reactive protein in serum from infants as
determined with immunodiffusion techniques.
II. Infants with various infections.
Acta Paediat. Scand. 59, 676 (1970)
- 194) SCHEIDEGGER, J.J.:
Une micro-méthode de l'immuno-électrophorèse.
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)
- 195) SCHEIFFARTH, F., M. PÉREZ-MIRANDA und H. GÖTZ:
Nachweis des C-reaktiven Proteins in normalen
Seren.
Blut 20, 296 (1970)
- 196) SCHLEICHER, E.:
LE cells after oral contraceptives.
Lancet 1, 821 (1968)
- 197) SCHNEIDER, C.C. and H. UEBEL:
Principle and technique of "LEWIS-3D-test"
for the serological diagnosis of malignancy.
A critical evaluation of the results.
In: GÖTZ, H. and E.S. BÜCHERL:
Applied Tumor Immunology. W. de Gruyter & Co.
Berlin-New York 1975, S. 119
- 198) SCHULLER, E.:
Determination of C-reactive protein by
electroimmunodiffusion in blood and CSF
of neurological patients.
Eur. Neurol. 9, 216 (1973)
- 199) SCHUMACHER, G.F.B.:
Acute phase protein in serum of women
using hormonal contraceptives.
Science 153, 901 (1966)

- 200) SCHULTZE, H.E. and J.F. HEREMANS:
Molecular biology of human proteins.
Elsevier Publishing Company, Amsterdam-
London-New York, Vol. 1, 1966
- 201) SCHULTZE, H.E., G. SCHWICK, J. SONNET, J. HEREMANS
und J.L. MICHAUX:
Gamma-X-Globulin, eine immunelektrophoretisch
nachweisbare γ -Globulin-Komponente mit Beziehungen
zum C-reaktiven Protein.
Klin. Wschr. 38, 62 (1960)
- 202) SCHWARZ, G.:
Das C-reaktive Protein.
Fortschr. Immunit.Forsch., Dietrich Steinkopff,
Darmstadt 1963
- 203) SEIDEL, K. und W. REUTER:
Ergebnisse der C-reaktiven Protein-Bestimmungen
bei rheumatischen Krankheiten, insbesondere
operierten rheumatischen Herzfehlern, und ihre
Korrelationen zu anderen Serum-Untersuchungs-
methoden.
Z. Rheumaforsch. 21, 79 (1962)
- 204) SHARMA, K.B. and S.L. BHATIA:
C-reactive protein in normal pregnancy
and in pregnancy with heart disease.
Ind. J. Med. Res. 53, 942 (1965)
- 205) SHAY, D.E. and J.G. RAY, Jr.:
Agar-gel precipitin-inhibition technique for
C-reactive protein determinations. III. Quanti-
tation of C-reactive protein in serum specimens.
Appl. Microbiol. 13, 305 (1965)
- 206) SIEGEL, J., R. RENT and H. GEWURZ:
Interactions of C-reactive protein with the
complement system. I. Protamine-induced
consumption of complement in acute phase sera.
J. Exper. Med. 140, 631 (1974)
- 207) Singer, J.M. and C.M. PLOTZ:
The latex fixation test. I. Application to
the serological diagnosis of rheumatoid arthritis.
Amer. J. Med. 21, 888 (1956)

- 208) SINGER, J.M., C.M. PLOTZ, E. PRADER
and S.K. ELSTER:
The latex fixation test. III. Agglutination
test for C-reactive protein and comparison
with the capillary precipitin method.
Amer. J. Clin. Path. 28, 611 (1957)
- 209) SPATH, P., F. GABL und H. HUBER:
Das quantitative Verhalten einzelner Serum-
eiweißfraktionen bei chronischer Urämie.
I. Serumkonzentrationen verschiedener Alpha-
Globuline und Verhalten des C-reaktiven
Proteins bei Patienten mit Urämie.
Wien. Klin. Wochenschr. 84, 590 (1972)
- 210) SPIERA, H. and C.M. PLOTZ:
Rheumatic symptoms and oral contraceptives.
Lancet 1, 571 (1969)
- 211) STIEHL, P., M. ROSENKRANZ, St. GAY
und G. GEILER:
Neuere Befunde des C-reaktiven Proteins
bei Rheumakranken.
Symposion der Ges. Rheumatol. der DDR.
Schloß Reinhardsbrunn 1970
- 212) STROLLERMAN, G.H., S. GLICK, D.S. PFTEL,
J. HIRSCHFIELD and J.H. RUSOFF:
Determination of C-reactive protein in
serum as a guide to the treatment and
management of rheumatic fever.
Amer. J. Med. 15, 645 (1953)
- 213) SVEC, K.H. and C. VIET:
Age-related antinuclear factors:
Immunologic characteristics and associated
clinical aspects.
Arthritis Rheum. 8, 457 (1965)
- 214) TENENBAUM, B.:
Immunoelectrophoretic localization
of C-reactive protein.
Pol. Arch. Med. Wewnet. 35, 831 (1965)

- 215) TILLET, W.S. and R. FRANCIS:
Serological reactions in pneumonia with
a non-protein somatic fraction of pneumococcus.
J. Exper. Med. 52, 561 (1930)
- 216) TYLER, C.W. and T.J. ROESS:
C-reactive protein in pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 73, 837 (1957)
- 217) UETE, T., K. OGI, S. FUKAZAWA
and Y. TAKEUCHI:
Clinical observation on the origin of
C-reactive protein in blood.
Clin. Biochem. 4, 9 (1971)
- 218) VAJDA, J. und L. BAKOS:
Die Hämotropinwirkung des C-reaktiven Proteins.
Z. Rheumaforsch. 21, 400 (1962)
- 219) VEDROS, N.A. and C. FISHEL:
The presence of C-reactive protein
in fractionated normal human sera.
J. Infect. Dis. 114, 429 (1964)
- 220) VEST, M. und J. MARTI:
Über das Auftreten von C-reaktivem Protein
und dessen Verhältnis zu Senkungsreaktion,
Weltmann-Band und Elektrophorese bei ver-
schiedenen Krankheiten im Kindesalter.
Schweiz. med. Wschr. 87, 782 (1957)
- 221) VOLANAKIS, J.E. and M.H. KAPLAN:
Specificity of C-reactive protein for choline
phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 136, 612 (1971)
- 222) VOLANAKIS, J.E. and M.H. KAPLAN:
Interaction of C-reactive protein complexes
with the complement system. II. Consumption
of guinea pig complement by CRP complexes:
Requirement for human Clq.
J. Immunology 113, 9 (1974)

- 223) WACHII, K.K.:
Effect of levamisole and C-reactive protein
on mitogen-stimulated lymphocytes in vitro.
Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol. 8/4, 681 (1974)
- 224) WEISS, M. und W. RAPP:
Geldiffusion nach OUDIN zur quantitativen Er-
fassung von Serumproteinen.
II. Untersuchung methodischer Faktoren.
Ärztl. Lab. 17, 309 (1971)
- 225) WERNER, B.:
Das C-reaktive Protein.
Med. Mschr. 19, 303 (1965)
- 226) WOOD, H.F.:
Effect of C-reactive protein on human leucocytes.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 76, 843 (1951)
- 227) WOOD, H.F.:
The stimulation of Cx-reactive protein response
by certain adjuvants and the relation of this
response to the enhancement of antibody production.
J. Exper. Med. 98, 321 (1953)
- 228) WOOD, H.F.:
The relationship between the acute phase response
and antibody production in the rabbit.
J. Exper. Med. 98, 311 (1953)
- 229) WOOD, H.F.:
Crystallization of C-reactive protein following
removed of associated lipid-containing material
by antiserum to normal human beta lipoprotein.
Yale J. Biol. Med. 36, 241 (1963)
- 230) WOOD, H.F. and M. McCARTY:
The measurement of C-reactive protein in human
sera. Comparison of the clinical tests on the
basis of a quantitative method.
J. Clin. Invest. 30, 616 (1951)

- 231) WOOD, H.F., M. McCARTY and R.J. SLATER:
The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. V. Physical-chemical properties of the C-reactive protein crystallized by a modified technique.
J. Exper. Med. 100, 71 (1954)
- 232) WOOD, H.F., H.D. DIAMOND, L.F. CAVER, E. PADER and S.K. ELSTER:
Determination of C-reactive protein in the blood of patients with Hodgkin's disease.
Ann. Int. Med. 48, 823 (1958)
- 233) YAFFEE, H.:
The C-reactive protein in diseases of the skin.
Arch. Dermatol. 75, 969 (1957)
- 234) YAMKOVA, I.P.:
C-reactive protein in patients suffering from tetanus.
Klin. Med. (Moskva) 47, 101 (1969)
- 235) ZABOLOTNY, L.S.:
Clinical value of the determination of C-reactive protein in patients with acute dysentery.
Vrac. delo (Kiev) 5, 115 (1968)
- 236) ZACH, J.:
Zur quantitativen Bestimmung des C-reaktiven Proteins.
Klin. Wschr. 39, 936 (1957)
- 237) ZACH, J. und K. ZIMMERMANN:
Zur Lokalisation des C-reaktiven Proteins im Eiweißspektrum des Serums.
Klin. Wschr. 37, 160 (1959)
- 238) ZEMSKOV, V.M. and V.A. GUBIN:
The site of C-reactive protein formation.
Patol. Fiziol. Eksp. Ter. 11, 56 (1967);
ref.: Chem.Abstr. 68, (7) 58200 k (1968)

- 239) ZIMMERMANN, K. und J. ZACH:
Über die Lokalisation von C-reaktivem
Protein im Eiweißspektrum des Serums.
Klin. Wschr. 38, 1193 (1960)
- 140) ZIMMERMANN-GÓRSKA, I., H. KUJAWA
and J. DRYGAS:
Investigations on acute phase factors in
myocardial infarction.
Pol. Arch. Med. Wernet. 47, 377 (1971)

LEBENS LAUF

Am 4. Juli 1949 wurde ich als letztes Kind des Walter Bensing und seiner Ehefrau Frieda Bensing, geb. Schempp in Lörrach in Baden geboren.

Von 1956 bis 1960 besuchte ich die Grundschule in Merzhausen bei Freiburg im Breisgau. 1960 wechselte ich auf das Rotteckgymnasium in Freiburg über, wo ich 1968 das Abitur bestand. Danach begann ich im Wintersemester 1968/69 mein Medizinstudium an der Universität in Freiburg. Zum Sommersemester 1970 setzte ich das Studium an der Freien Universität in Berlin fort. Nach fünf Semestern bestand ich dort das Physikum.

Nach dem Wintersemester 1974/75 habe ich das Medizinische Staatsexamen abgelegt. Ich beabsichtige, mich auf dem Gebiet der Kinderheilkunde zu spezialisieren.

Frau Prof. Dr. Hilde G ö t z danke ich für die
Überlassung des Themas, die Einführung in wissen-
schaftliches Arbeiten sowie für die allzeit bereit-
willige Diskussion in Fragen, die meine Dissertation
betrafen, aber auch in Fragen der klinischen und
experimentellen Immunologie.

